

Züchtungsmethodische Ansätze zur Erhöhung der Anbaubedeutung der Gelben (*Lupinus luteus*) und Weißen Lupine (*Lupinus albus*) im Ökolandbau

Increase of the agronomic importance of yellow (*Lupinus luteus*) and white lupins (*Lupinus albus*)
for organic farming by breeding methods

FKZ: 09OE071

Projektnehmer:

Julius Kühn-Institut
Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen
Rudolf-Schick-Platz 3a, 18190 Sanitz
Tel.: +49 38209 45-200
Fax: +49 38209 45-222
E-Mail: zl@jki.bund.de
Internet: www.jki.bund.de

Autoren:

Ruge-Wehling, Brigitte; Jansen, Gisela

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere
Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Abschlussbericht

<p>Zuwendungsempfänger:</p> <p>Julius Kühn-Institut</p> <p>Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen</p> <p>Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz</p>	<p>Förderkennzeichen:</p> <p>2809OE071</p>
<p>Titel:</p> <p>Züchtungsmethodische Ansätze zur Erhöhung der Anbaubedeutung der Gelben (<i>Lupinus luteus</i>) und Weißen Lupine (<i>Lupinus albus</i>) im Ökolandbau</p>	
<p>Laufzeit des Vorhabens: 01.04.2011 – 31.01.2014</p>	
<p>Berichtszeitraum: 01.04.2011 – 31.01.2014</p>	



Züchtungsmethodische Ansätze zur Erhöhung der Anbaubedeutung der Gelben (*Lupinus luteus*) und Weißen Lupine (*Lupinus albus*) im Ökolandbau

Brigitte Ruge-Wehling, Gisela Jansen

Rudolf-Schick-Platz 3a

18190 Sanitz

brigitte.ruge-wehling@jki.bund.de

Kurzfassung

Ziel des Vorhabens war es, die Anbauwürdigkeit und Ertragssicherheit von Gelben Lupinen (LUG) und Weißen Lupinen (LUW) zu steigern. Die wissenschaftlichen Arbeitsziele waren (A) Identifizierung von genetischen Ressourcen für Anthraknoseresistenz und Frühzeitigkeit und (B) Charakterisierung von LUG- und LUW-Sorten und Zuchtstämmen hinsichtlich Kornertag, Rohprotein- und Alkaloidgehalt.

Im dreijährigen Versuch erwies sich die polnische LUG-Sorte 'Taper' als sehr resistent und zugleich frühzeitig. Bei LUW wurde diesbezüglich keine Differenzierung beobachtet. Die Vererbungsanalyse der Resistenz in 'Taper' ergab einen monogen-dominanten Erbgang. Zur Entwicklung von Selektionsmarkern für die Resistenz wurden ca. 80 PCR-Markerassays aus verschiedenen Leguminosengenomen etabliert.

Erträge und Inhaltsstoffe wurden über 3 Jahre auf 3 ökologisch bewirtschafteten Standorten (Groß Lüsewitz, Steinach, Triesdorf) untersucht. Die Erträge, Tausendkorngewichte und Proteingehalte von LUG und LUW betragen durchschnittlich 9,8 dt/ha und 11 dt/ha, 146 g und 373 g bzw. 43,1 % und 39,0 % in TM. Eine GC/MS-Methode zur Bestimmung der Alkaloide in Gelben und Weißen Lupinen etabliert, mit welcher signifikante Sortenunterschiede im Bitterstoffgehalt nachgewiesen werden konnten. Der Gesamtalkaloidgehalt in LUG betrug im Mittel 0,0177 % und bei LUW 0,2796 %. Eine zerstörungsfreie NIR-Schnellbestimmungsmethode an ganzen Samenkörnern für Rohproteingehalt bei LUG und LUW konnte mit einem Bruker Multi-Purpose Analyzer etabliert werden. Für eine NIR-basierte Analyse des Alkaloidgehalts war hingegen der Fehler der Kalibrierung und Validierung noch zu hoch.

Die im Vorhaben erzielten Forschungsergebnisse unterstützen die Eiweißstrategie des BMEL.

Abstract

The overall aim was to lend a contribution to increasing agronomic importance, yield and yield stability of yellow and white lupins. The research goals were (i) to identify genetic resources of anthracnose resistance and earliness, and (ii) to characterise cultivars and breeding lines with regard to kernel yield, protein and alkaloid contents.

The yellow lupin cv. 'Taper' was found to express high levels of anthracnose resistance, combined with good earliness. There was no differentiation with these two traits among entries of white lupin. Resistance in cv. 'Taper' was found to be inherited by a single dominant factor. About 80 PCR-based molecular marker assays were established using sequence information from a variety of legume genomes.

In a field trial (3 yrs., 3 locations) under organic-farming conditions, average yields, thousand-kernel weight and protein contents among cultivars and breeding lines of yellow and white lupin were 9.8 dt/ha and 11 dt/ha, 146 g and 373 g, and 43.1 % and 39.0 % in dry matter, respectively. Using a GC/MS-based method, seeds of yellow and white lupins were found to contain 0.0177 % and 0.2796 % of alkaloids, respectively. A non-destructive NIR-based method for determining the protein content in whole seeds was set up to assist plant breeding programmes.

The results support the national protein strategy of BMEL.

Inhaltsverzeichnis

1. Einführung	1
1.1 Gegenstand des Vorhabens	1
1.2 Bezug des Vorhabens zu konkreten Bekanntmachungen und Ausschreibungen	1
1.3 Planung und Ablauf des Projektes	1
2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	2
3. Material und Methoden	4
4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	8
5. Diskussion der Ergebnisse	32
6. Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	34
7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen, weiterführende Fragestellungen	35
8. Zusammenfassung	36
9. Literaturverzeichnis	37
10. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen	39

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Resistente (r) und anfällige (a) Pflanzen der LUG-Sorte 'Pachodnya' (links) sowie resistenter und anfälliger LUW-Zuchtstamm (rechts)	8
Abbildung 2 Die endständige LUG-Sorte 'Taper' im Vergleich zur hoch anfälligen LUW-Sorte 'Amiga' (Infektionsstreifen), Groß Lüsewitz 2012	9
Abbildung 3 Auswertung des Anthraknosebefalls in Groß Lüsewitz im Versuchsjahr 2012	10
Abbildung 4 Auswertung des Anthraknosebefalls in Groß Lüsewitz über die Versuchsjahre 2011 – 2013	11
Abbildung 5 Auswertung des Anthraknosebefalls in Groß Lüsewitz im Versuchsjahr 2012	12
Abbildung 6 Auswertung der Frühzeitigkeit in Groß Lüsewitz über die Versuchsjahre 2011-2013.....	14
Abbildung 7 Screening von drei molekularen Markern (/1/2itg52625, /1/2itg37631, /1/2itg270979 der Gelben Lupine und acht Sorten	16
Abbildung 8 Resistente und anfällige Pflanzen der Kreuzungspartner (links) und in der F2-Kartierungspopulation (rechts)	17
Abbildung 9 Ertrag von Gelben Lupinen im Jahr 2013 (geschätzte Mittelwerte, 3 Standorte, 3 Wiederholungen)	19
Abbildung 11 Standortvergleich im Ertrag von Gelben Lupinen, Ernte 2013 (GL Groß Lüsewitz, ST Steinach, TR Triesdorf)	19
Abbildung 12 Ertrag von 16 Prüfgliedern Weiße Lupine im Anbaujahr 2013.....	20
Abbildung 13 Standortvergleich im Ertrag von Weißen Lupinen im Anbaujahr 2013.....	21
Abbildung 14 Standortvergleiche im TKG von Gelben Lupinen, Ernte 2013	21
Abbildung 15 TKG von 16 Prüfgliedern Weiße Lupine im Anbaujahr 2013	22
Abbildung 16 Standortverteilung des Rohproteingehalts in Gelben Lupinen, Ernte 2012	23
Abbildung 17 Standortverteilung des Rohproteingehalts in Weißen Lupinen, Ernte 2012.....	23
Abbildung 18 Geschätzte Mittelwerte im Proteingehalt von Gelben Lupinen, Ernte 2013, über 3 Standorte und 3 Wiederholungen	24
Abbildung 19 Ortsvergleich im Proteingehalt von Gelben Lupinen, Ernte 2013	24
Abbildung 20 Proteingehalt von 16 Prüfgliedern Weiße Lupine im Anbaujahr 2013.....	25
Abbildung 21 Rohproteingehalte in Weißen Lupinen an verschiedenen Standorten (Ernte 2013)	25
Abbildung 22 Geschätzte Mittelwerte des Alkaloidgehaltes von Gelben Lupinen (16 Prüfglieder, 3 Standorte und 3 Wiederholungen in 2013).....	26
Abbildung 23 Ortsvergleich des Alkaloidgehaltes [µg/g] in Gelben Lupinen 2013.....	27
Abbildung 24 Alkaloidgehalt (µg/g) in 16 Prüfgliedern der Weißen Lupine im Anbaujahr 2013 auf 3 Standorten .	28
Abbildung 25 Alkaloidgehalt [µg/g] auf 3 Standorten der Ernte 2013 (Weiße Lupinen).....	28
Abbildung 26 Aufnahme von NIR-Spektren an ganzen Körnern von Gelben Lupinen in 2011 (rot: Groß Lüsewitz, blau: Steinach, grün: Triesdorf)	30
Abbildung 27 Aufnahme von NIR-Spektren an ganzen Körnern von Weißen Lupinen 2011 (rot: Groß Lüsewitz, blau: Steinach, grün: Triesdorf)	31

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Bodenart, Bodenzahl und pH-Wert der Anbaustandorte	5
Tabelle 2 Geprüfte Sorten und Zuchtstämme der Gelben Lupine (kursiv: nicht weiter angebaut).....	5
Tabelle 3 Geprüfte Sorten und Zuchtstämme Weißen Lupine (kursiv: nicht weiter angebaut)	6
Tabelle 4 Aussaat und Erntetermine von Gelben und Weißen Lupinen	7
Tabelle 5 Ergebnis der Gewächshausresistenztests bei der Gelben Lupine (N= 20)	13
Tabelle 6 Erschließung von Markerressourcen	15
Tabelle 7 Kreuzungspartner zur Erstellung von Kartierungspopulationen	16
Tabelle 8 Mittelwerte und Variationsbreite von Ertrag, TKG sowie Alkaloidgehalt in Gelben und Weißen Lupinen	28

Tabelle 9 Ergebnisse der Kalibration und Kreuzvalidation der Vorhersage des Proteingehaltes (externe Validation) in Gelben Lupinensamen der Ernte 2012 und 2013	30
Tabelle 10 Ergebnisse der Kalibration und Kreuzvalidation der Vorhersage des Proteingehaltes (externe Validation) in Weißen Lupinensamen der Ernte 2012 und 2013.....	31

1. Einführung

1.1 Gegenstand des Vorhabens

Ziel des Vorhabens war es, die Anbauwürdigkeit und Ertragssicherheit von Gelben und Weißen Lupinen zu steigern, um die Verfügbarkeit an regional und ökologisch erzeugtem hochwertigem Eiweiß zu erhöhen (Strategie 100%-Biofütterung). Weiße Lupinen (*Lupinus albus* L.) und insbesondere Gelbe Lupinen (*Lupinus luteus* L.) bringen mit ihren vergleichsweise hohen Proteingehalten eine wichtige Voraussetzung als Proteinpflanzen mit.

Die Ziele des Vorhabens waren zum einen auf die Verbesserung der Widerstandsfähigkeit der beiden Kulturarten gegenüber der Anthraknose gerichtet. Zum Erreichen dieses Teilziels wurden die folgenden Arbeitspakete absolviert: (I) Etablierung eines Gewächshaus-Resistenztests, (II) Etablierung eines Freiland-Resistenztests, (III) Gewächshaus-Screening von Prüfgliedern auf Anthraknoseresistenz, (IV) Feldversuche zur Ermittlung der Frühzeitigkeit, (V) Erschließung von Markerressourcen, (VI) Erstellung von Kartierungspopulationen, (VII) Spaltungsanalysen für das Merkmal "Anthraknoseresistenz", (VIII) Kombination von Anthraknoseresistenz und Frühzeitigkeit.

Ein weiteres Teilziel des Vorhabens war (i) die Bestimmung wertgebender Inhaltsstoffe (Proteingehalt) sowie werthemmender Inhaltsstoffe (Alkaloide), (ii) die Bereitstellung von Schnellmethoden für die Untersuchung der Inhaltsstoffe sowie (iii) die Erfassung von Ertragsdaten zur Verbesserung der Anbauwürdigkeit von Gelben und Weißen Lupinen im ökologischen Landbau.

1.2 Bezug des Vorhabens zu konkreten Bekanntmachungen und Ausschreibungen

Das Vorhaben bezieht sich auf die Bekanntmachung 03/09/51 der BLE über die Durchführung von Forschungsprojekten zur „Pflanzenzüchtung für den ökologischen Landbau“, mit dem thematischen Schwerpunkt der "Züchterischen Weiterentwicklung von Leguminosen für die Bedingungen des ökologischen Anbaus" hinsichtlich wertgebender bzw. werthemmender Inhaltsstoffe und seinem Fokus 1.1.3 "Lupine, z. B. Gelbe Lupine hinsichtlich Anthraknoseresistenz, gleichmäßige Abreife in Kombination mit Frühreife."

1.3 Planung und Ablauf des Projektes

Die Planung und der Ablauf der Projektarbeiten folgten weitgehend den Festlegungen der Vorhabensbeschreibung, mit den folgenden Ausnahmen:

Zum Teilziel "Anthraknoseresistenz" wurden nicht alle Sorten und Zuchtstämme der Gelben und Weißen Lupine über drei Jahre getestet. Vielmehr wurde Pflanzenmaterial, welches bereits im ersten Versuchsjahr als sehr anfällig eingestuft wurde, gegen neue Prüfglieder im folgenden Projektjahr ausgetauscht.

Zum Teilziel "Inhaltsstoffe" wurden auf Grund der zur Verfügung stehenden Saatgutmengen die Prüfglieder auf den drei ökologischen Standorten nicht in vierfacher, sondern in dreifacher Wiederholung angebaut, wobei jedoch weiterhin eine statistisch aussagekräftige Auswertung der Ergebnisse erfolgen konnte. Sorten und Zuchtstämme mit sehr schlechten Ertragsergebnissen wurden im folgenden Jahr durch bessere, erfolgversprechende Sorten und Zuchtstämme ersetzt.

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Lupinen zählen zu den Leguminosen mit den höchsten Eiweißgehalten. Durch die Forderung einer weitgehend importunabhängigen Futterproduktion im Ökolandbau sind sie vermehrt von Interesse. Die Zuchtziele Ertragsleistung, Ertragsstabilität und stabile Inhaltsstoffqualität zählen zu den Herausforderungen in der Züchtung von Lupinen. Die Kornqualität wird maßgeblich durch die Gehalte an Protein und Alkaloiden bestimmt (Eickmeyer 2009). Weiterhin ist für den ökologischen Landbau die Verfügbarkeit frühreifer und gleichmäßig abreifender Sorten dringend erforderlich, weil keine Sikkationsmittel zur Einleitung einer Abreife eingesetzt werden dürfen. Ohne diese Mittel werden bisher zugelassene Sorten auf guten Standorten in Mecklenburg-Vorpommern teilweise nicht reif (Jansen u. a., FKZ: 03OE355).

Insbesondere durch die im ökologischen Landbau angestrebte hofeigene Futtermittel-erzeugung ergibt sich die Forderung nach ertragstabilen und resistenten Sorten, die nicht nur über einen hohen Eiweißgehalt verfügen, sondern auch bitterstoffarm sind. Bekannt sind Umwelteinflüsse auf den Bitterstoffgehalt, insbesondere die Wirkung verschiedener Düngemittel (Ciesiolka et al. 2005) und der Temperatur während der Anbauphase (Jansen et al. 2009). Um eine Überschreitung bestehender Richtwerte zu vermeiden, sind Sorten mit niedrigem Bitterstoffgehalt unter allen Anbaubedingungen vorteilhaft. Bei der hofeigenen Futtermittelerzeugung und –verwendung wäre eine Entbitterung der Körner mit zusätzlichem Aufwand und zusätzlichen Kosten verbunden.

Im Gegensatz zur Blauen Süßlupine, bei der die an australische Anbaugelände angepassten Sorten 'Tanjil' und 'Mandelup' mit Resistenz gegen *C. lupini* verfügbar sind (Yang et al. 2004; Yang et al. 2008), ist für die Gelbe und Weiße Lupine weltweit wenig zur Ausprägung von Anthraknoseresistenz bekannt. Phan et al. 2007 beschreiben für die Weiße Lupine zwei QTLs für eine quantitativ vererbte Resistenz, die aus einer äthiopischen Landrasse stammt. Eine ebenfalls quantitativ vererbte und nicht voll wirksame Resistenz beschreiben Adhikari et al. 2008 für die Gelbe Lupine. Zur Verbesserung der Anthraknoseresistenz Weißer Lupinen in Deutschland wurden bereits züchterische Arbeiten durchgeführt (Geißendörfer, FKZ: 02OE241). Die bisher erlangten Ergebnisse zur Anthraknose-Resistenz bei Lupinen wurden von australischen Arbeitsgruppen und unter australischen Anbaubedingungen erarbeitet. Wissenschaftliche Ergebnisse zur Frühzeitigkeit sind bisher nicht bekannt.

Eine erste genetische Karte für die Blaue Lupine wurde von Nelson et al. (2006) entwickelt und umfasst 163 RFLP-, 75 AFLP-, 4 SCAR- sowie 135 EST-basierte Marker, verteilt auf 20 Kopplungsgruppen. Eine erweiterte Karte wurde von derselben Arbeitsgruppe 2010 publiziert (Nelson et al. 2010). Eine genetische Karte mit 325 Markern und einer Gesamtlänge von 2951 cM wurde von Phan et al. 2007 für die Weiße Lupine erstellt. Yang et al. 2010 entwickelten PCR-basierte Marker für eine quantitativ vererbte Anthraknose-Resistenz in der Weißen Lupine. Für die Gelbe Lupine wurde bisher keine genetische Karte erstellt.

Eine exakte Bestimmung der Bitterstoffe (Alkaloide) mittels Gaschromatografie in Verbindung mit einem nachgeschalteten Massenspektrometer GC/MS (Wink 1983) kann derzeit in Deutschland nur in wenigen Speziallaboren durchgeführt werden und wird von der VDLUFA nicht angeboten.

Der Einsatz der NIR-Technik als schnelle Bestimmungsmethode ist in der Literatur für einige Inhaltsstoffe in Kulturpflanzen und Futtermitteln bereits beschrieben (Miralbes 2004; Aulrich und Böhm 2007a und b; Gonzalez-Martin et al. 2006; Perez-Marin et al. 2004). Generell mangelt es jedoch an Bestimmungsmethoden, die eine zerstörungsfreie Analyse ganzer Samenkörner erlauben und somit die weitere züchterische Verwendung analysierter Samen ermöglichen würden. Einen Fortschritt in diese Richtung stellt die Entwicklung einer Methode

zur Erfassung des Rohproteingehaltes in Einzelsamen von Blauen Lupinen dar (Jansen und Kuhlmann 2007).

3. Material und Methoden

Gewächshaus-Resistenztests

Die Charakterisierung der Prüfglieder von Gelber und Weißer Lupine in ihrer Anfälligkeit für Anthraknose erfolgte nach der Methode von Yang et al. (2005) im Gewächshaus unter kontrollierten Bedingungen. Zur Inokulation der Pflanzen wurde eine Suspension mit 500.000 Konidien/ml des *Colletotrichum-lupini*-Stammes 70385 hergestellt. Dieser Stamm wurde freundlicherweise durch G. Hagedorn, JKI-Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, zur Verfügung gestellt und wird in Groß Lüsewitz als Dauerkultur erhalten. Nach Sprühinokulation des Haupttriebes wurden die Pflanzen mit einer feuchten Plastiktüte überzogen, um die Infektionsvorgang anzuregen. Nach einer Dunkelphase von 16 h wurden die Pflanzen bis zur Bonitur im Gewächshaus (20/16°C) kultiviert. Die Bonitur erfolgte ca. 2 Wochen nach der Inokulation in qualitativer Weise durch Zuweisung jedes Prüfgliedes zu einem der beiden Phänotypen "resistent" bzw. "anfällig".

Freiland-Resistenztests

Die Freilandversuche zur Anthraknoseresistenz bei der Gelben Lupine (LUG) wurden in Groß Lüsewitz durchgeführt, die bei der Weißen Lupine (LUW) in Groß Lüsewitz und in Triesdorf. Die Versuche wurden als randomisierte Blockanlage mit 2 Wiederholungen angelegt. In die Versuche waren jeweils zwei anfällige Standards integriert. In Groß Lüsewitz erfolgte eine künstliche Inokulation durch Behandlung der Samen mit einem Gemisch aus vier Stämmen von *C. lupini*, um in allen drei Versuchsjahren einen einheitlichen Befall zu erreichen. An den anderen Standorten wurde nur der spontan auftretende Befall erfasst. Die Bonitur erfolgte an drei Terminen (BBCH35, BBCH63 und BBCH81). Es wurde nach einer Boniturskala von 1 bis 9 bonitiert (1= befallsfrei; 9= komplett befallen).

Frühzeitigkeit

Die Frühzeitigkeit wurde für die LUG in Groß Lüsewitz und in Steinach in Mikroplots (Doppelreihen) mit je zwei Wiederholungen pro Standort über drei Jahre geprüft. Die Versuche mit LUW erfolgten in Groß Lüsewitz und in Steinach. Die Frühzeitigkeit wurde in randomisierten Mikroplots (Doppelreihen) erfasst. Die Bonitur erfolgte im Stadium BBCH63 und BBCH77. Aufgrund der begrenzten Saatgutverfügbarkeit wurde die Frühzeitigkeit bei LUW in jenen Parzellen bonitiert, die auch für die Erfassung des Anthraknosebefalls genutzt wurden.

Erschließung von Markerressourcen

Zur Etablierung von molekularen Markern für beide Kulturarten wurde Sequenzinformation aus allen nutzbaren Leguminosen-Genomen verwendet. Hierzu zählen etwa 150 Marker aus der genetischen Karte der Blauen Süßlupine, die von Nelson et al. 2006 publiziert wurden, etwa 150 Primersequenzen für *Pisum sativum*, die in einer öffentlich zugänglichen Datenbank hinterlegt sind, sowie ca. 50 Marker, die auf Grundlage von SSR-Motiven in Sequenzen von *Lotus japonicus* am Institut entwickelt wurden.

Erstellung von Kartierungspopulationen

Ausgewählte Linien der gelben Lupine mit geringer Anfälligkeit gegenüber Anthraknose wurden mit anfälligen Linien gekreuzt und die F1-Pflanzen wiederum zur Erstellung spaltender F2-Familien geselbstet.

Spaltungsanalyse für das Merkmal Anthraknoseresistenz

72 Einzelpflanzen der F2-Kartierungspopulation JKI-GL-1118/2 wurden zur Blüte mit einem Isolat von *C. lupini* inokuliert und nach 14 Tagen phänotypisiert.

Inhaltsstoffanalysen

Im Projekt wurden jeweils 16 LUG- und LUW-Sorten bzw. -zuchtstämme auf drei zertifizierten ökologischen Standorten (Groß Lüsewitz, Triesdorf und Steinach) über einen Zeitraum von 3 Jahren (2011, 2012 und 2013) angebaut. Eine Übersicht zu den Standorten gibt Tabelle 1.

Tabelle 1 Bodenart, Bodenzahl und pH-Wert der Anbaustandorte

Jahr	Standort	Bodenart	Bodenzahl	pH-Wert
2011	Groß Lüsewitz	Lehmiger Sand	47	5,6
2011	Steinach	Lehm (L3D)	67/71	5,9
2011	Triesdorf	Lehmiger Sand	26	6,4
2012	Groß Lüsewitz	Lehmiger Sand	47	6,0
2012	Steinach	Sandiger Lehm (sL3Al)	64 – 71	6,6
2012	Triesdorf	Anmoriger Sand	26	6,3
2013	Groß Lüsewitz	Lehmiger Sand	47	6,0
2013	Steinach	Lehm (L4Al)	64 – 71	6,5
2013	Triesdorf	Schwach lehmiger Sand	26	6,6

In Tabelle 2 und Tabelle 3 sind die untersuchten Sorten und Stämme dargestellt, in Tabelle 4 sind die Aussaat- sowie Erntetermine zusammengefasst.

Tabelle 2 Geprüfte Sorten und Zuchtstämme der Gelben Lupine (kursiv: nicht weiter angebaut)

2011	2012	2013
<i>Gülzower Süße Gelbe</i>	Taper	Taper
<i>Borselfa</i>	Bo 32421	Bo 32421
Borena	Borena	Borena
<i>Bornova</i>	Bo 32424	Bo 32424
Boresa	Boresa	Boresa
<i>Bornal</i>	Bo 10551	Bo 10551
<i>Borsaja</i>	<i>Borsaja</i>	Perkoz
Juno	Juno	Juno
Pootallong	Pootallong	Pootallong
<i>Popiel</i>	<i>Popiel</i>	Mister
Parys	Parys	Parys
Wasch	Wasch	Wasch
Bosch	Bosch	Bosch
Amulett	Amulett	Amulett
Piast	Piast	Piast
<i>Schwako</i>	Bo 10553	Bo 10553

Tabelle 3 Geprüfte Sorten und Zuchtstämme Weißen Lupine (kursiv: nicht weiter angebaut)

2011	2012	2013
AMIGA	AMIGA	AMIGA
TRI 07051	TRI 07051	TRI 07051
<i>TRI 07057</i>	TRI 07120.01	TRI 07120.01
<i>TRI 07063</i>	TRI 07221.03	TRI 07221.03
<i>TRI 07052</i>	TRI 7288.01	TRI 7288.01
<i>TRI 07065</i>	TRI 07288.08	TRI 07288.08
<i>TRI 07098.01</i>	TRI 07506.03	TRI 07506.03
<i>TRI 07116.01</i>	(14-06-065-)6.1	(14-06-065-)6.1
<i>TRI 07116.03</i>	(14-06-065-)9.2	(14-06-065-)9.2
<i>FEODORA</i>	(14-06-065-)6.11	(14-06-065-)6.11
<i>TRI 07116.09</i>	TRI 07116.091	TRI 07116.091
<i>TRI 07120.01</i>	TRI 07116.092	TRI 07116.092
<i>TRI 07221.06</i>	TRI 07116.093	TRI 07116.093
<i>TRI 07251.01</i>	TRI 07120.011	TRI 07120.011
<i>TRI 07288.08</i>	TRI 07120.012	TRI 07120.012
<i>TRI 07289.05</i>	TRI07251.011	TRI07251.011

Am Untersuchungsmaterial wurden Ertragsparameter bestimmt. Die Erfassung der Daten erfolgte durch die Ermittlung des Kornertrags und des Tausendkorngewichts (TKG) nach der Ernte. Die geernteten Lupinenkörner wurden einer üblichen Reinigung mittels Siebung und Windsichtung auf den jeweiligen Standorten (Groß Lüsewitz GL, Steinach ST und Triedorf TR) unterzogen. Danach erfolgte eine Feinreinigung in Groß Lüsewitz (Aussammeln von falschen und kranken Körnern). In den nachfolgenden Auswertungen wurde der Ertrag nach Feinreinigung verwendet. Am Erntegut wurde der Protein- sowie der Alkaloidgehalt (Bitterstoffe) mit Standardmethoden ermittelt. Zur Probenvorbereitung wurden die Lupinenkörner zunächst mit einer Schrotmühle SM3 und anschließend mit einer Fallzahlmühle (0,8 mm Sieb) vermahlen. Die Proteinuntersuchungen wurden nach Kjeldahl und die Bestimmung der Alkaloide mittels GC/MS nach Wink (1983) durchgeführt. Die Alkaloide wurden mit Salzsäure extrahiert und anschließend durch Überführen in Methylenchlorid gereinigt und aufkonzentriert. Die Quantifizierung der Bitterstoffe wurde mittels Gaschromatografie und einer Identifizierung mittels Massenspektrometrie erreicht.

Tabelle 4 Aussaat und Erntetermine von Gelben und Weißen Lupinen

Jahr	Standort	Gelbe Lupine		Weiße Lupine	
		Aussaat	Ernte	Aussaat	Ernte
2011	Groß Lüsewitz	30.03.	22.08.	15.04.	30.08.
2011	Steinach	14.04.	17.08.	14.04.	15.09.
2011	Triesdorf	13.04.	02.11.	13.04.	02.11.
2012	Groß Lüsewitz	30.03.	16.08./23.08.	02.04.	13.09./17.09.
2012	Steinach	29.03.	26.07./08.08.	29.03.	29.08.
2012	Triesdorf	26.04.	10.09.	26.04.	10.09.
2013	Groß Lüsewitz	15.04.	28.08.	15.04.	13.09.
2013	Steinach	04.04.	31.07./08.08.	04.04.	22.08.
2013	Triesdorf	22.04.	22.08.	22.04.	03.09.

Für die Entwicklung von Schnellmethoden an ganzen Körnern wurden NIR-Spektren aufgenommen. Eine Kalibration sowie eine interne und externe Validierung wurden am Bruker Multi Purpose Analyzer durchgeführt, wobei hierfür die nasschemischen Daten der Ernte 2012 und 2013 verwendet wurden.

Die statistische Verrechnung der Daten erfolgte auf Grund des jährlich wechselnden Sortiments jahresweise mit dem linearen SAS-Modell GLM unter Berücksichtigung von Mittelwerten und geschätzten Mittelwerten, da insbesondere auf dem Standort Steinach in 2013 nicht alle Prüfglieder auf Grund des schlechten Auflaufs beerntet werden konnten.

4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

- **Etablierung eines Gewächshausresistenztests (Arbeitspaket ZL-1)**

Die ursprünglich für *L. angustifolius* etablierte Resistenztest-Methode von Yang et al. (2004) konnte im Vorhaben erfolgreich zur Anwendung bei Gelber und Weißer Lupine adaptiert werden. In beiden Kulturarten konnten neben anfälligen Pflanzen auch Prüfglieder identifiziert werden, die frei von erkennbarem Befall mit Anthraknose blieben (Abbildung 1).

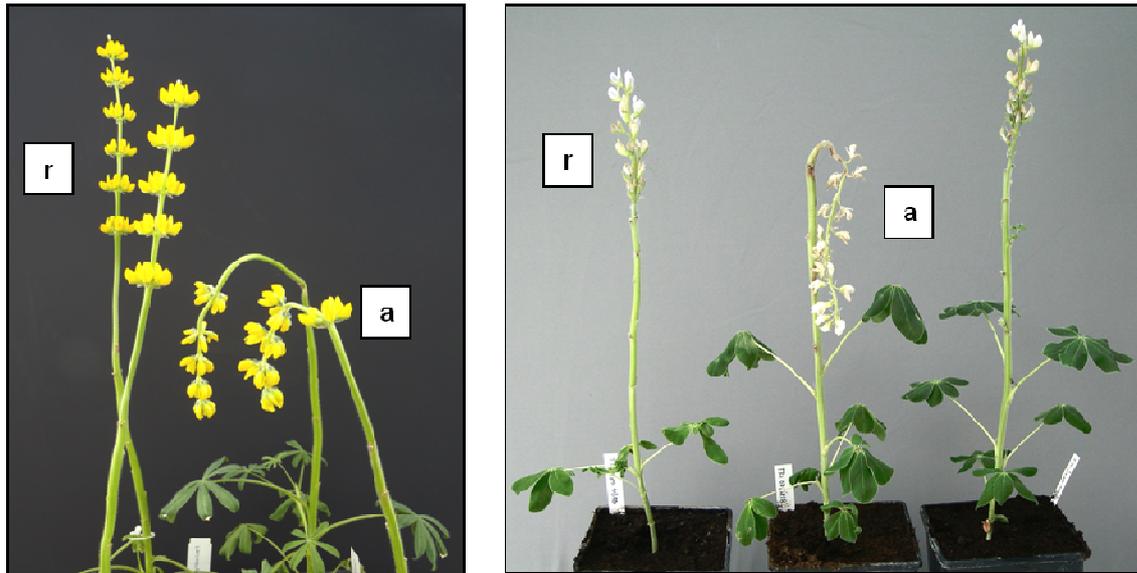


Abbildung 1 Resistente (r) und anfällige (a) Pflanzen der LUG-Sorte 'Pachodnya' (links) sowie resistenter und anfälliger LUW-Zuchtstamm (rechts)

Der Fokus wurde auf die Gelbe Lupine gelegt, da hier die Saatgutverfügbarkeit besser war. Die Linien der Weißen Lupine wurden jedoch ab 2011 in den Freilandversuch (ZL-2) integriert, so dass eine Aussage zur Anthraknose-Anfälligkeit auch dieser Gruppe möglich ist.

- **Freiland-Resistenztest (ZL-2)**

Die Etablierung des Freiland-Resistenztests für die Weiße und Gelbe Lupine erfolgte im Jahr 2011. Sorten und Linien, die 2011 als hoch anfällig eingestuft worden waren, wurden in den Versuchsjahren 2012 und 2013 nicht mehr getestet.

Im zweiten und dritten Projektjahr wurden je 46–48 Linien der Weißen Lupine (Doppelreihen) und 24–26 Sorten bzw. Linien der Gelben Lupine (1,5 x 2 m Parzellen) in 2 Wiederholungen im Freiland getestet. Als Inokulum wurden zwischen den Versuchsgliedern zweier Parzellen ein "Infektionsstreifen" mit der WL-Sorte 'Amiga' ausgelegt. Die hohe Anfälligkeit dieser Sorte und ihre Eignung für Infektionsstreifen konnte auch 2012 im Feld in Groß Lüsewitz eindrucksvoll demonstriert werden (Abbildung 2). Die Infektionsstreifen waren durch Pflanzen mit dem typischen Krankheitssymptom – Eindrehen des Stängels – gekennzeichnet. Die Resistenzbeurteilung im Feld erfolgte durch die Vergabe der Boniturnoten 1 – 9 (1= sehr gering befallen, 9= sehr stark befallen) für den Anthraknosebefall vergeben.

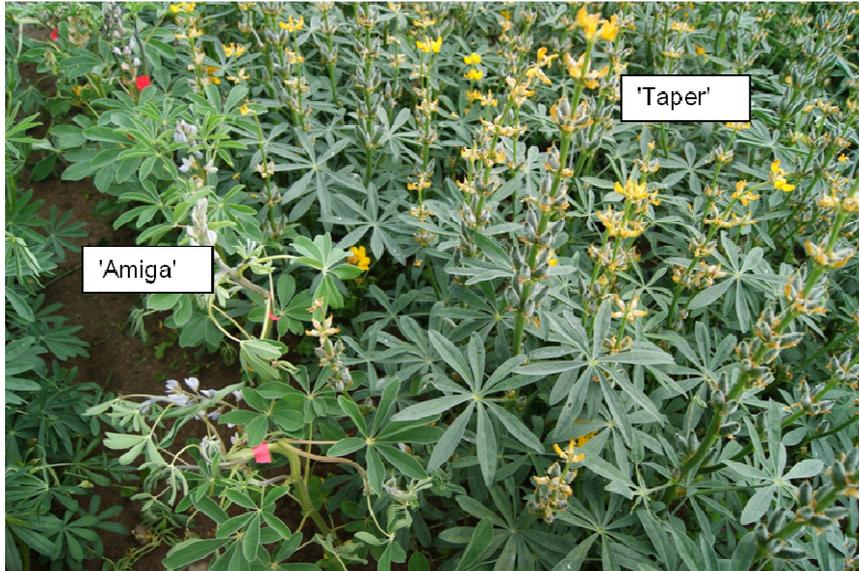


Abbildung 2 Die endständige LUG-Sorte 'Taper' im Vergleich zur hoch anfälligen LUW-Sorte 'Amiga' (Infektionsstreifen), Groß Lüsewitz 2012

Gelbe Lupine

Die Auswertung über drei Jahre erfolgte insgesamt für 9 Sorten bzw. Zuchtlinien. Die Sorten 'Bosch' und 'Amulett' dienen dabei als anfällige Standards, weil sie im Gewächshaustest als hoch anfällig eingestuft worden waren. Der hohe Befall im Freiland über alle drei Versuchsjahre bestätigt die Einschätzung dieser Sorten. Die restlichen Versuchsglieder waren im Gewächshaus (Tabelle 2) in den Versuchsjahren 2011 und 2012 (Abbildung 3) oder im Feld im Vergleich zu den anfälligen Standards als geringer anfällig eingestuft worden.

Die polnische Sorte 'Taper' zeigte sich im Versuchsjahr 2012, ähnlich wie 2011, nahezu symptomfrei in beiden Wiederholungen (Abbildung 2). Der starke Befallsdruck in 2013, ausgelöst durch eine hohe Pilzvermehrung aufgrund des warmen und feuchten Frühjahrs, führte zu einem leichten Befall der Sorte 'Taper', so dass im Mittel über alle drei Jahre keine vollständige Befallsfreiheit bonitiert werden konnte. Dennoch zeichnet sich diese Sorte durch einen wesentlich geringeren Befall (im Mittel 1,8 Boniturnoten) im Vergleich zu den anderen Prüfgliedern aus (Abbildung 4).

Ebenfalls positiv fielen die Sorte 'Legat' mit einer mittleren Boniturnote 2 über beide Wiederholungen sowie die Zuchtlinie 'Bo 10556' mit einer mittleren Boniturnote von 5,5 auf (Abbildung 3). Dieses Ergebnis stimmt gut mit den Resultaten aus dem Gewächshaus-Screening überein. Von den 20 getesteten Pflanzen des Zuchtstammes und der Sorte zeigten nur einzelne Befall (Tabelle 5). Aufgrund des starken Befallsdrucks in 2013 zeigt die Sorte 'Legat' in 2013 insgesamt einen mittleren Befall.

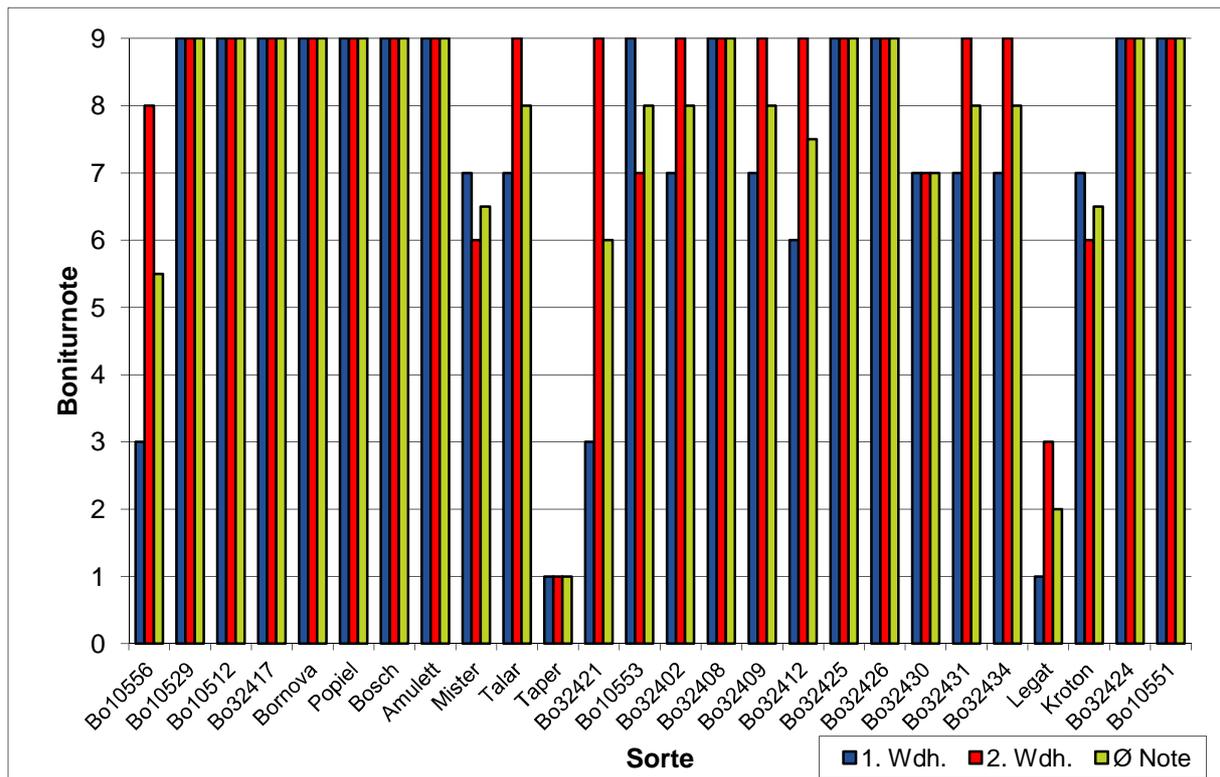


Abbildung 3 Auswertung des Anthraknosebefalls in Groß Lüsewitz im Versuchsjahr 2012

Die Sorte 'Mister', die in 2012 nur einen geringen Befall im Feld auswies (Abbildung 3), konnte aufgrund der geringen Saatgutmenge in 2013 nicht mehr geprüft werden. Die Linie Bo32424, im Gewächshaus noch als Resistenzträger beurteilt, zeigte sich in 2012 im Feld als komplett anfällig und wurde deshalb in 2013 nicht mehr in den Feldtest einbezogen. Die Sorten 'Popiel' und 'Bornova' sowie die Linie Bo32421 zeigten im Gewächshaus (Tabelle 5) sowie 2011 und 2012 im Feld einen geringen Befall. Die Auswertung über drei Jahre zeigt jedoch insgesamt ein zu geringes Resistenzpotenzial, so dass diese drei Prüfglieder als Resistenzträger für die Züchtung nicht empfehlenswert erscheinen.

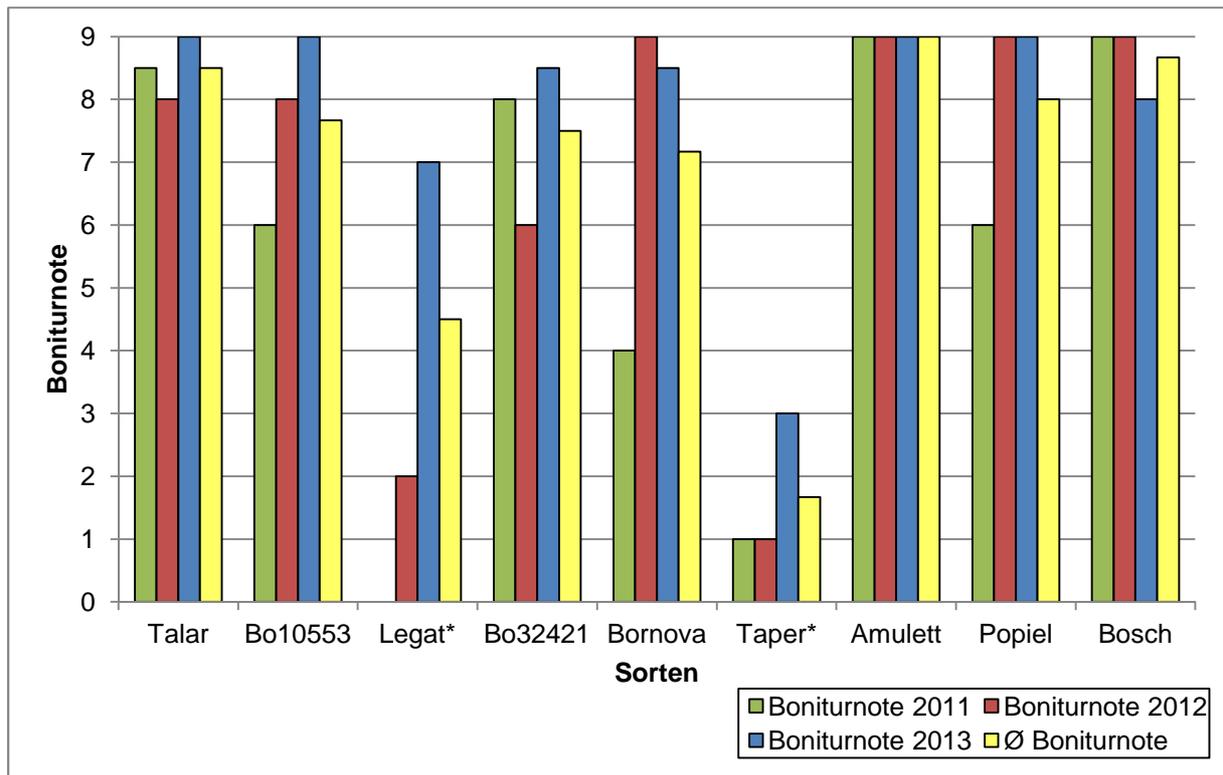


Abbildung 4 Auswertung des Anthraknosebefalls in Groß Lüsewitz über die Versuchsjahre 2011 – 2013

Weißer Lupine

Die Zuchtlinien der Weißen Lupine zeigten kaum eine Differenzierung über die drei Versuchsjahre. Die Abbildung 5 zeigt die Boniturnoten aus dem Jahr 2012. Neben den aus Triesdorf gesendeten Prüfmitgliedern wurden sechs Linien integriert, deren Saatgut aus symptomfreien Hülsen aus dem Versuchsjahr 2011 von Zuchtlinien aus Triesdorf gewonnen wurden. Das Ergebnis in 2012 zeigt jedoch, dass keinerlei genetische Resistenz in diesen Genotypen fixiert ist.

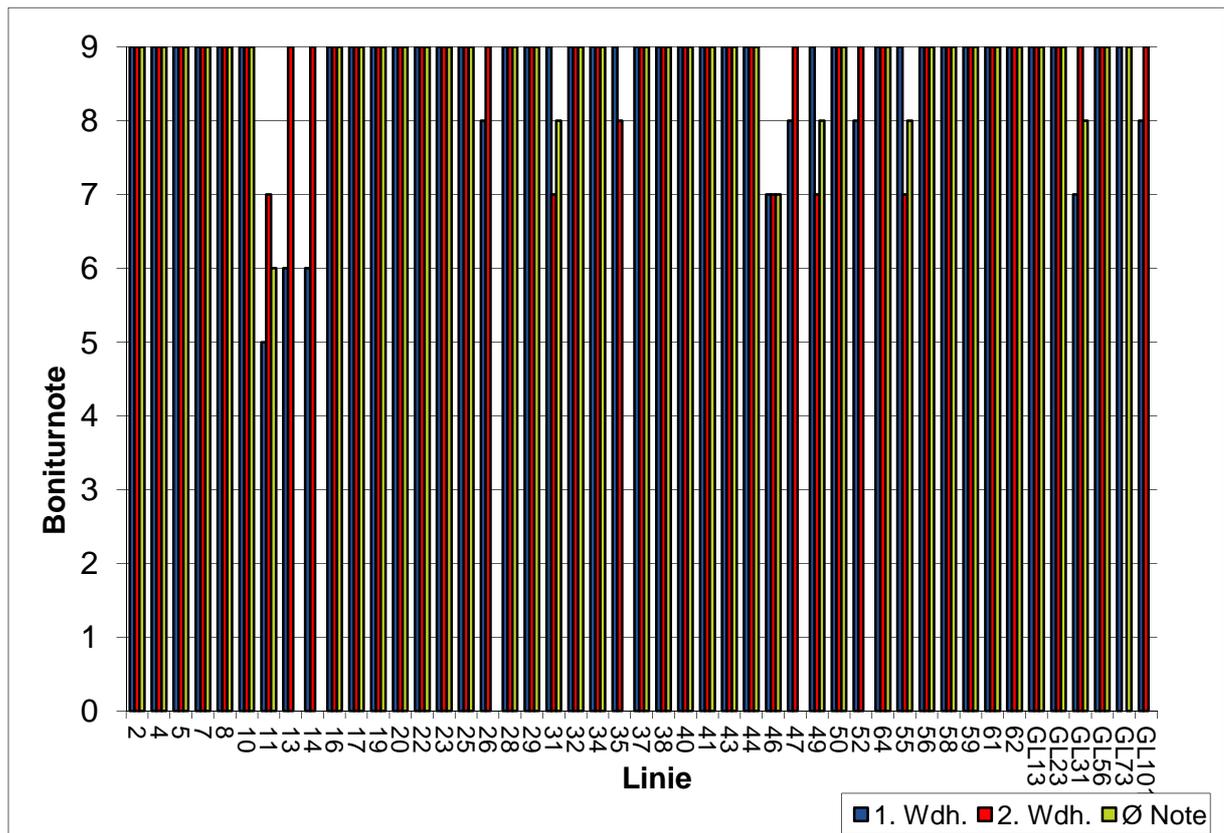


Abbildung 5 Auswertung des Anthraknosebefalls in Groß Lüsewitz im Versuchsjahr 2012

Die Feldergebnisse aus Groß Lüsewitz mit Infektionsstreifen sind im Hinblick auf das Resistenzniveau der Weißen Lupine kaum mit den Ergebnissen der Triesdorfer Versuche zu vergleichen, weil in letzterem Fall nur der spontane Befall bonitiert wurde und in den Versuchsjahren 2011 bis 2013 sehr unterschiedlich war. Eine eindeutige Aussage kann nur dann erfolgen, wenn durch eine künstliche Infektion an allen Standorten der gleiche Infektionsdruck auf die Versuchspflanzen ausgeübt wird.

Die Ergebnisse im Hinblick auf die Anthraknoseresistenz können wie folgt zusammengefasst werden:

- Die Übertragung eines aussagekräftigen Gewächshausresistenztests von der Blauen Lupine auf die Gelbe und Weiße Lupine verlief erfolgreich.
- Ein Screening von Gelben Lupinen im Gewächshaus ergab eine gute Differenzierung im Grad der Anfälligkeit und erlaubte die Identifizierung potenzieller Resistenzträger. Bei der Weißen Lupine war eine solche Differenzierung nicht möglich.
- Das hohe Resistenzpotenzial der Sorten 'Taper' und 'Legat' konnte im Feldversuch bestätigt werden.
- Die Prüfglieder der Weißen Lupine reagierten im Feldversuch mit starker Anthraknoseanfälligkeit.

• **Gewächshauscreening auf Anthraknoseresistenz (ZL-3)**

Gelbe Lupine

In der Tabelle 5 sind die Ergebnisse aus dem Gewächshaus-Resistenztest für LUG zusammengefasst.

Tabelle 5 Ergebnis der Gewächshausresistenztests bei der Gelben Lupine (N= 20)

Prüfglied	res. ^a	anf. ^b	Aufspaltung ^c	Prüfglied	res.	anf.	Aufspaltung
Bo 10512			x	Taper	x		
Bo 10529			x	Mister	x		
Bo10556			x	Parys		x	
Bo 32402			x	Gülzower Süße Gelbe		x	
Bo 32408			x	Pootalong		x	
Bo 32409			x	Juno		x	
Bo 32412			x	Piast		x	
Bo 32417			x	Bosch		x	
Bo 32425			x	Taler		x	
Bo32424	x			Bornal		x	
Bo 32426			x	Borselfa		x	
Bo 32430		x		Pachodnya			x
Bo 32431			x	Wasch			x
Bo 32434			x	Popiel			x
Bo10551			x	Borsaja			x
Bo10553			x	Borena			x
Bo32421			x	Dukat			x
Legat	x			Boresa			x
Amulett		x		Bornova			x
Kroton			x				

^{a, b} alle 20 Pflanzen ohne Befall bzw. befallen; ^c ≥5 von 20 Pflanzen ohne Befall

Von den getesteten 17 Zuchtlinien und 21 Sorten wurde der Zuchtstamm 'Bo32424' sowie die Sorten 'Taper', 'Legat' und 'Mister' nach der Inokulation mit *C. lupini* als vollständig resistent unter 20 analysierten Pflanzen eingestuft. Des Weiteren zeigten bei den Zuchtstämmen Bo10556 und Bo10529 sowie der Sorte 'Legat' nur 1 von 20 bzw. 3 von 18 Pflanzen Symptome. Diese Ergebnisse stimmen gut mit den Boniturdaten aus dem Freiland überein (vgl. ZL-2). Einige der im Gewächshaus als komplett anfällig eingestuften Sorten wurden als anfällige Kreuzungspartner für die Erstellung von spaltenden Kartierungspopulationen verwendet (s. ZL-6). Denkbare Ursachen für die Aufspaltung in resistente und anfällige Pflanzen innerhalb derselben Sorte bzw. Zuchtlinie könnte eine unvollständige Homogenität der Linien bzw. Sorten.

Weißer Lupine

Je 10 Pflanzen aus dem von den Landwirtschaftlichen Lehranstalten Triesdorf für den Freilandversuch 2012 zur Verfügung gestellten Material wurden im Gewächshaus auf ihre Anthraknoseanfälligkeit getestet. Von den 50 getesteten Linien reagierten die meisten Linien mit mittlerem bis starkem Befall (Boniturnoten 4 – 5), d. h., die Pflanzen wiesen große Läsionen am Stängel auf, bis hin zum Abknicken der Pflanzen. Positiv beurteilt wurden die Linien 18, 27 und 28 mit den Boniturnoten 1 – 3, d. h., einige Pflanzen waren symptomfrei und andere zeigten nur kleine oder mittlere Läsionen am Stängel.

- **Feldversuche zur Ermittlung der Frühzeitigkeit (ZL-4)**

Gelbe Lupine

Daten zur Frühzeitigkeit der Gelben Lupine wurden in Mikroplots mit zwei Wiederholungen erfasst. Es wurde zweimal bonitiert (BBCH63 und BBCH77-79), so dass sowohl die Vollblüte als auch die Hülse kurz vor der Abreife bonitiert wurde. Eine spätere Bonitur war nicht sinnvoll, weil durch den starken Befall der Hülsen mit *C. lupini* die Hülsenreife nicht mehr auswertbar war.

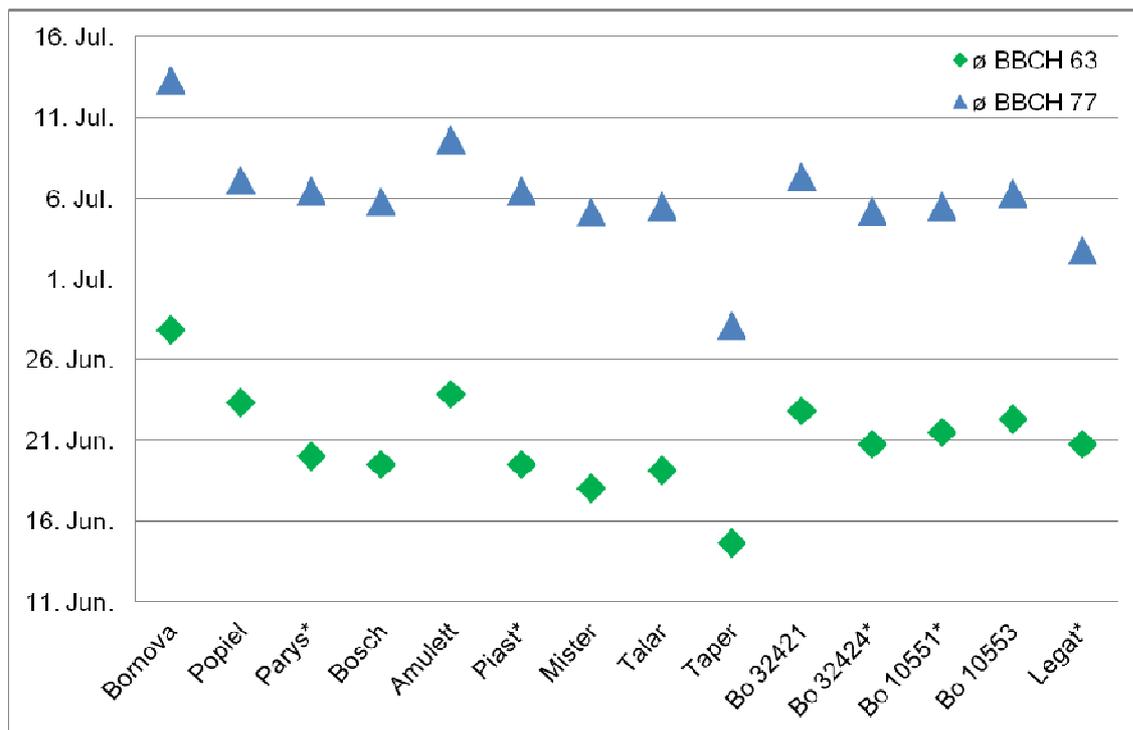


Abbildung 6 Auswertung der Frühzeitigkeit in Groß Lüsewitz über die Versuchsjahre 2011-2013

Besonders früh in Groß Lüsewitz blühte die Sorte 'Taper'. Sie war der Sorte 'Bornova' in der Blütenentwicklung um zwei Wochen voraus (Abbildung 6). Die endständige Sorte 'Taper' zeigte bereits ausgeprägte Hülsen zu einem Zeitpunkt, an dem die Sorte 'Bornova' noch in der Vollblüte stand (Abbildung 6). Dies spiegelt die Sortenentwicklung über 20 Jahre wieder. Die Sorte 'Bornova' wurde 1981 zugelassen, die Sorte 'Taper' erst 2002. Ebenfalls eine frühe Blüte zeigte die Sorte 'Mister', gefolgt von 'Talar', 'Piast' und 'Bosch'. Diese Ergebnisse decken sich gut mit denen des Standortes Steinach. Die Sorte 'Taper' blühte dort bereits am 11.6., gefolgt von der Sorte 'Mister' (13.6.) und 'Bosch' (14.6.). Die Hülsenentwicklung ist wie erwartet mit dem Blütezeitpunkt positiv korreliert; d. h., früh blühende Sorten zeigen auch früher eine ausgeprägte Hülse (Abbildung 6).

Weißer Lupine

Zwischen den Zuchtlinien gab es keine signifikante Differenzierung zur Blüte. In Groß Lüsewitz blühte die Weiße Lupine zwischen dem 11.6. (2013) und 14.6. (2012). Weitere Bonituren wurden nicht durchgeführt, weil aufgrund des starken Befalls des Bestandes mit *C. lupini* eine normale Entwicklung von der Blüte zur Hülse nicht stattfand. Die Ergebnisse stimmen sehr gut mit denen aus Steinach und Triesdorf überein.

Die Ergebnisse im Hinblick auf das Merkmal Frühzeitigkeit können wie folgt zusammengefasst werden:

- Eine Differenzierung der Prüfglieder im Blühbeginn und in der Hülsenbildung war nur bei der Gelben Lupine möglich.

- Die frühe LUG-Sorte 'Taper' erwies sich auch als anthraknoseresistent (vgl. ZL-2, -3) und zeigte einen guten Ertrag (vgl. RS-2). Die Anthraknoseresistenz scheint aber nicht durch die Frühzeitigkeit bedingt zu sein, da z. B. die Sorte 'Bosch' ebenfalls zu den frühblühenden Sorten gezählt werden kann, aber hoch anfällig ist. Die Sorte 'Legat' liegt im Hinblick auf das Merkmal Frühzeitigkeit im Mittelfeld, zeigt aber im Vergleich zu den anderen Prüfgliedern eine Toleranz gegenüber *C. lupini*.

- **Erschließung von Markerressourcen (ZL-5)**

Zur Etablierung von molekularen Markern für beide Kulturarten wurde Sequenzinformation aus allen nutzbaren Leguminosen-Genomen verwendet (Tabelle 6).

Insgesamt wurden 159 Primerpaare sowohl in der Weißen als auch in der Gelben Lupine getestet; davon waren 76 (48 %) über ein PCR-Produkt darstellbar.

Tabelle 6 Erschließung von Markerressourcen

Primer-Ressource	Anzahl getesteter Primer	Anzahl darstellbarer PCR-Fragmente
<i>L. angustifolius</i>	100	54
<i>P. sativum</i>	39	4
<i>L. luteus</i>	20	18

Die in der Abbildung 7 dargestellten drei Marker aus der Arbeit von (Parra-Genzalez et al. 2012) zeigen acht verschiedene Sorten der Gelben Lupine, die für Kreuzungen zwischen potenziellen Resistenzträgern ('Taper', 'Legat', 'Mister', 'Pachodnya') und anfälligen Sorten ('Amulett', 'Talar', 'Bornova', 'Bosch') verwendet wurden. Der Marker /1/2itg37631 weist einen Polymorphismus zwischen der resistenten Sorte 'Taper' und der anfälligen Sorte 'Bosch' auf und könnte für eine spätere Kartierung des Merkmals Resistenz interessant sein.

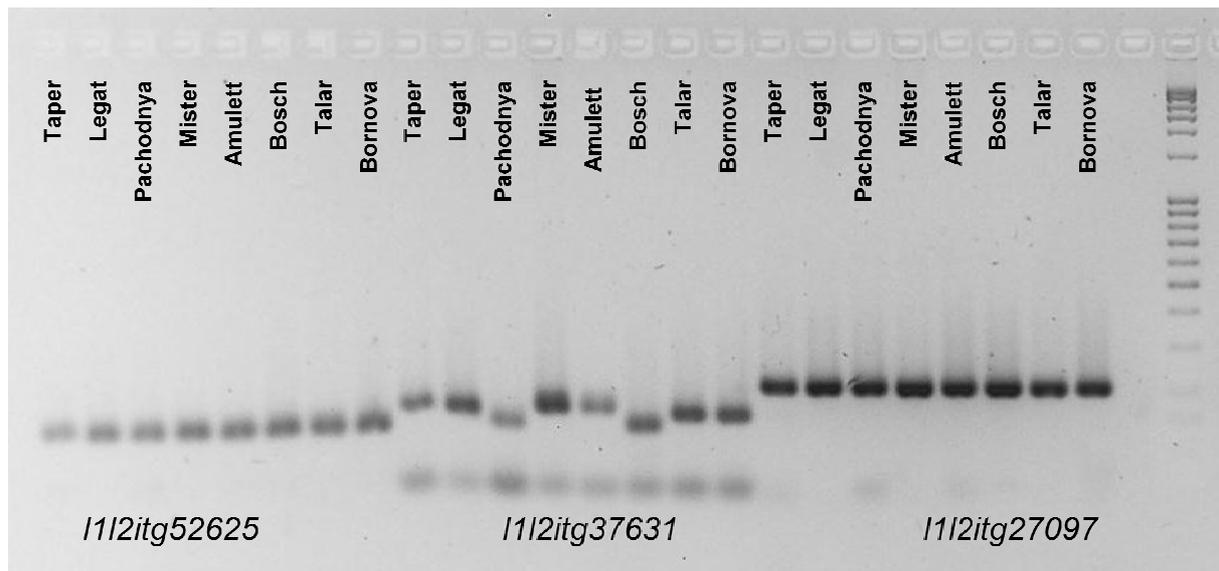


Abbildung 7 Screening von drei molekularen Markern (l1/2itg52625, l1/2itg37631, l1/2itg27097) der Gelben Lupine und acht Sorten

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass die Etablierung von molekularen Markern in Gelber und Weißer Lupine gelungen ist und diese Marker für die Kartierung von Merkmalen sowie die Entwicklung von Selektionsmarkern in der Lupinenzüchtung genutzt werden können.

- **Erstellung von Kartierungspopulationen (ZL-6)**

Kartierungspopulationen wurden im Hinblick auf die genetische Analyse des Merkmals Anthraknoseresistenz erstellt. Ausgehend von einer F1-Pflanze ist es bei der Lupine nicht gelungen 100 F2-Körner zu gewinnen, so dass man für die genetische Analyse von 100 Individuen pro Ausgangskreuzung Vollgeschwisterfamilien bilden muss (Tab. 7)

Tabelle 7 Kreuzungspartner zur Erstellung von Kartierungspopulationen

Resistenter Elter	Anfälliger Elter	N F1-Hülsen	N F2-Körner
Pachodnya/1	Amulett/1	11	46
Pachodnya/2	Amulett/2	19	25
Mister/1	Talar/1	6	22
Mister/2	Bosch/1	19	44
Taper/1	Bosch/2	21	30
Taper/2r	Amulett/3	37	34
Taper/3	Amulett/4	38	77
Bo32421/1	Bosch/3	40	85
Bo32421/2	Bosch/4	21	37

- **Spaltungsanalyse für das Merkmal Anthraknoseresistenz (ZL-7)**

Die Phänotypisierung der Kartierungspopulation JKI-GL-1118/2 in anfällige und resistente Phänotypen (Abbildung 8, rechts) ergab unter 72 analysierten F₂-Nachkommen der Kreuzung (Taper/3 x Amulett/4, Tab. 7) eine Aufspaltung in 52 Resistente und 20 Anfällige. Fünf Körner der Kartierungspopulation sind nicht gekeimt. Die Spaltungszahlen sind mit einem 3:1-Verhältnis vereinbar ($\chi^2 = 0,296$). Somit kann davon ausgegangen werden, dass die in der LUG-Sorte 'Taper' wirksame Anthraknose-Resistenz von einem dominanten Faktor vererbt wird.



Abbildung 8 Resistente und anfällige Pflanzen der Kreuzungspartner (links) und in der F₂-Kartierungspopulation (rechts)

Die Ergebnisse im Hinblick auf die genetische Analyse des Merkmals Anthraknoseresistenz können dahingehend zusammengefasst werden, dass erstmals eine hoch wirksame und züchterisch nutzbare Resistenz gegen *C. lupini* in Gelber Lupine identifiziert und verfügbar gemacht werden konnte. Bei der einzigen bis dato berichteten Resistenz (Adhikari et al. 2008) handelt es sich hingegen um eine nicht vollständig wirksame, quantitative Resistenz.

- **Kombination von Anthraknoseresistenz und Frühzeitigkeit (ZL-8)**

Die Durchführung dieses AP ist entfallen, weil die selektierten Resistenzträger auch gleichzeitig frühreif sind (vgl. Ergebnisse ZL-4).

- **Etablierung einer Methode zur Alkaloidbestimmung mittels GC/MS in Gelber und Weißer Lupine (RS-1)**

Die Standardmethode zur Alkaloidbestimmung ist in M&M beschrieben. Zur exakten Bestimmung der Alkaloide in Gelben und Weißen Lupinen wurden die einzelnen Alkaloide am Gaschromatografen analysiert und dabei mittels Massenspektrometer identifiziert. Darauf basierend konnte gezeigt werden, dass die Hauptalkaloide in Gelber Lupine das Lupinin und Spartein sowie in Weißer Lupine das Lupanin, 13-Hydroxy-Lupanin, Albin, Multiflorin und Spartein sind.

- **Erfassung des Ertragsdaten von jeweils 16 Sorten und Stämmen von Gelber und Weißer Lupine (RS-2)**

Ernte 2011:

Gelbe Lupine

Im Anbaujahr 2011 gab es wegen der großen Streuung der Erträge auf den drei ökologischen Standorten keine signifikanten Ertragsunterschiede zwischen den LUG-Sorten. Die Sorte 'Borena' hatte 2011 mit etwa 15 dt/ha die höchsten Erträge und die Sorte 'Gülzower Süße Gelbe', die auf dem Standort Steinach nicht geerntet werden konnte, mit etwa 1,9 dt/ha die niedrigsten Erträge. Im folgenden Jahr wurde die bittere Sorte 'Schwako' und weitere Sorten mit niedrigem Ertrag, wie 'Bornal', 'Bornova' und 'Borselva' durch

Zuchtstämme sowie die ertragsschwache 'Gülzower Süße Gelbe' durch die polnische Sorte 'Taper' ersetzt (Tabelle 2).

Wahrscheinlich auf Grund der Handernte wurden auf dem Standort Groß Lüsewitz die höchsten Erträge erzielt. Insgesamt fielen die Erträge mit unter 10 dt/ha jedoch sehr gering aus.

Weißer Lupine

Im Anbaujahr 2011 gab es zwischen den Zuchtstämmen und –sorten der Weißen Lupine im Ertrag nur signifikante Unterschiede zwischen der alten Sorte 'Amiga' und drei weiteren Prüfgliedern. Für den Zuchtstamm TRI 07120.01 2011 wurden mit etwa 19 dt/ha die höchsten Erträge und für die Sorte 'Amiga' mit etwa 4,5 dt/ha die niedrigsten Erträge festgestellt. Der Zuchtstamm TRI 07120.01 wurde jedoch in den darauf folgenden Jahren nicht mehr angebaut. Die höheren Erträge aller 16 Prüfglieder wurden in Triesdorf mit 16,9 dt/ha und Groß Lüsewitz (Handernte) mit 13,7 dt/ha erreicht. Die geringsten Erträge waren auf dem Standort Steinach mit 6,8 dt/ha zu verzeichnen.

Ernte 2012:

Gelber Lupine

Da einige Prüfglieder auf dem Standort Steinach fehlten, wurden für die Ermittlung der Rangfolge der Sorten auf allen 3 Standorten geschätzte Mittelwerte verwendet. Im Mittel erzielten die Sorten 'Wasch', 'Borena' sowie der Stamm Bo 32424 und Bo 32421 mit etwa 13 dt/ha die höchsten Erträge, während 'Juno', 'Boresa' und 'Amulett' mit unter 10 dt/ha eine geringe Ertragsleistung zeigten. Das Erntejahr 2012 war durch einen geringen Anthraknosebefall auf dem Standort Groß Lüsewitz gekennzeichnet, was dazu führte, dass der Standort Groß Lüsewitz mit einem über die Sorten gemittelten Ertrag von 22,7 dt/ha den Standorten Triesdorf mit 6,2 dt/ha und Steinach mit 5,3 dt/ha signifikant überlegen war.

Weißer Lupine

Auch bei den Weißen Lupinen gab es signifikante Standortunterschiede: Groß Lüsewitz (19,0 dt/ha) > Steinach (11,4 dt/ha) > Triesdorf (5,6 dt/ha). Im neuen Sortiment der Weißen Lupinen erreichte der Zuchtstamm TRI 07221.03 den höchsten Ertrag (21,1 dt/ha) und die Sorte 'Amiga' den niedrigsten Ertrag (0,749 dt/ha). Die Unterschiede waren signifikant.

Ernte 2013:

Gelber Lupine

Im Anbaujahr 2013 gab es nur geringfügige Veränderungen im Sortiment. Die Sorte 'Borsaja' wurde durch die polnische Sorte 'Perkoz' und die Sorte 'Popiel' durch die polnische Sorte 'Mister' ausgetauscht. Insgesamt gab es im Jahr 2013 keine signifikanten Unterschiede zwischen den 16 Prüfgliedern auf 3 Standorten. Den höchsten Ertrag erzielte der Stamm Bo32424, der auch in 2012 schon zu den Stämmen mit einem hohen Ertrag gehörte. Wiederum war es 'Boresa', die durch einen niedrigen Ertrag (8,0 dt/ha) auffiel (Abbildung 9).

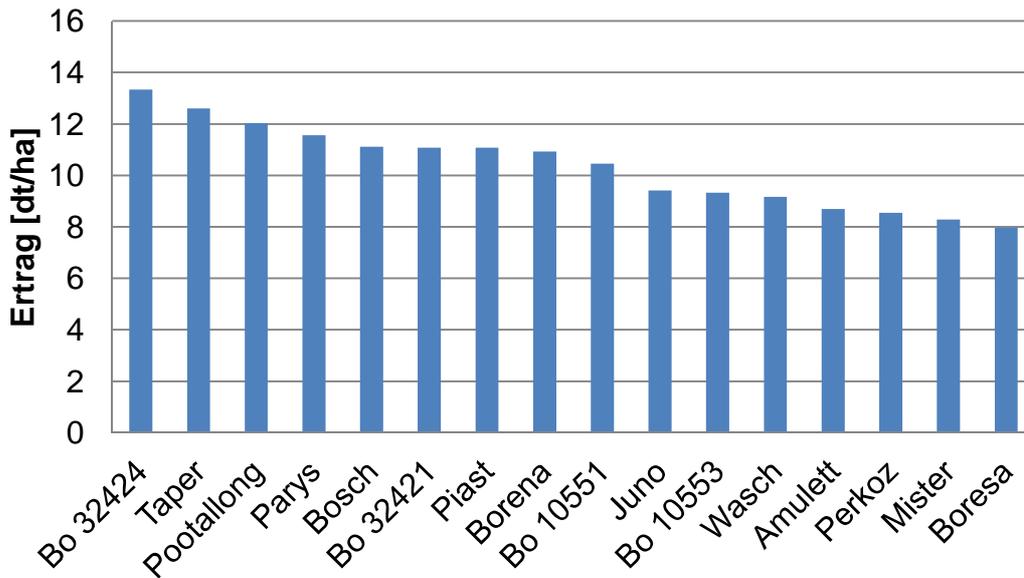


Abbildung 9 Ertrag von Gelben Lupinen im Jahr 2013 (geschätzte Mittelwerte, 3 Standorte, 3 Wiederholungen)

Wurde im Erntejahr 2012 insgesamt ein geringer Anthraknosebefall in Groß Lüsewitz ermittelt, so zeigte sich 2013 ein starker Befall, der schon relativ früh einsetzte. Im Standortvergleich gab es zwischen Steinach (12,0 dt/ha) und Groß Lüsewitz (11,8 dt/ha) keine signifikanten Unterschiede, während sich Steinach und Triesdorf (7,7 dt/ha) sowie Groß Lüsewitz und Triesdorf signifikant unterschieden (Abbildung 10).

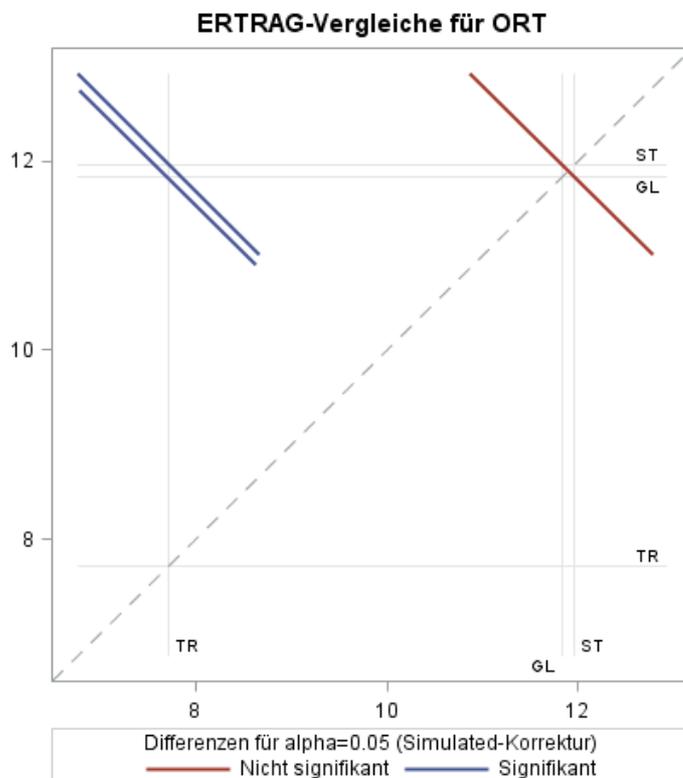


Abbildung 10 Standortvergleich im Ertrag von Gelben Lupinen, Ernte 2013 (GL Groß Lüsewitz, ST Steinach, TR Triesdorf)

Weißer Lupine

Drei Stämme der Weißen Lupine (TRI 07116.093, TRI 07116.092 und TRI 07116.091) zeichneten sich durch Erträge von über 10 dt/ha im Mittel aller Standorte aus (Abbildung 11). Die Vergleichssorte 'Amiga' erreichte nur einen Ertrag von 2,6 dt/ha.

2013 waren die Erträge mit 8,5 dt/ha im Mittel über alle Sorten und Standorte für die Weiße Lupine sehr gering (teilweise hoher Anthraknosebefall). Wie bei den Gelben Lupinen setzte der Befall in Groß Lüsewitz relativ früh und in Steinach und Triesdorf erst später ein. Trotzdem wurden in Groß Lüsewitz (10,9 dt/ha) signifikant höhere Erträge als in Steinach (7,9 dt/ha) und in Triesdorf (6,7 dt/ha) erzielt (Abbildung 12).

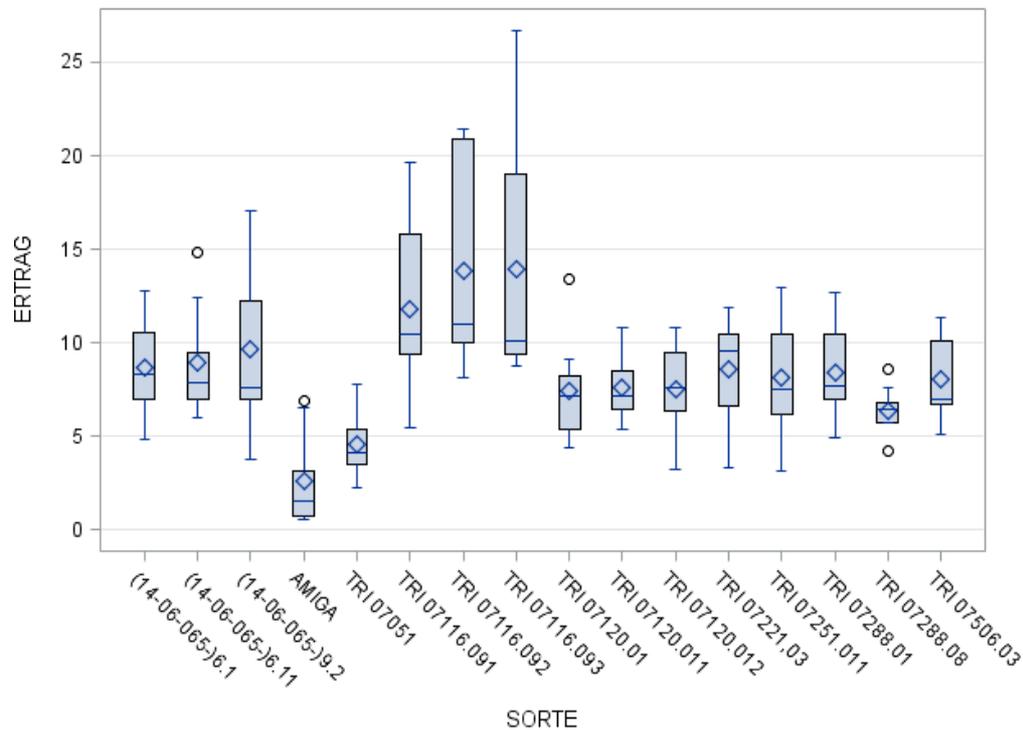


Abbildung 11 Ertrag von 16 Prüfgliedern Weiße Lupine im Anbaujahr 2013

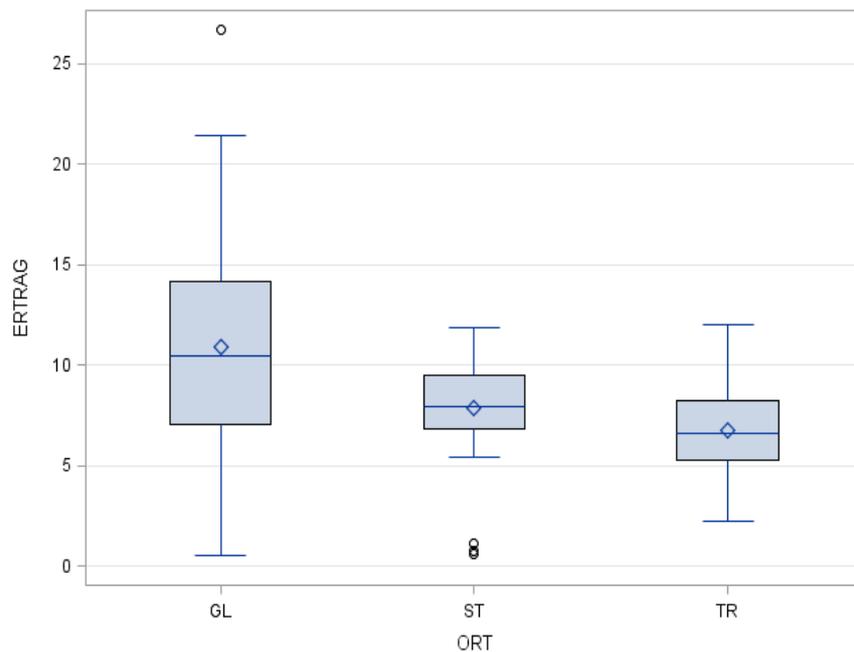


Abbildung 12 Standortvergleich im Ertrag von Weißen Lupinen im Anbaujahr 2013

Für die Ergebnisse zum TKG wird exemplarisch das Erntejahr 2013 dargestellt.

Gelbe Lupine

Die Unterschiede zwischen den Prüfgliedern waren in 2013 nicht signifikant. Alle Zuchtstämme gehörten jedoch zu solchen mit einem hohen TKG. Auf den drei Anbauorten wurden signifikante Unterschiede im TKG festgestellt (GL > ST > TR, Abbildung 13).

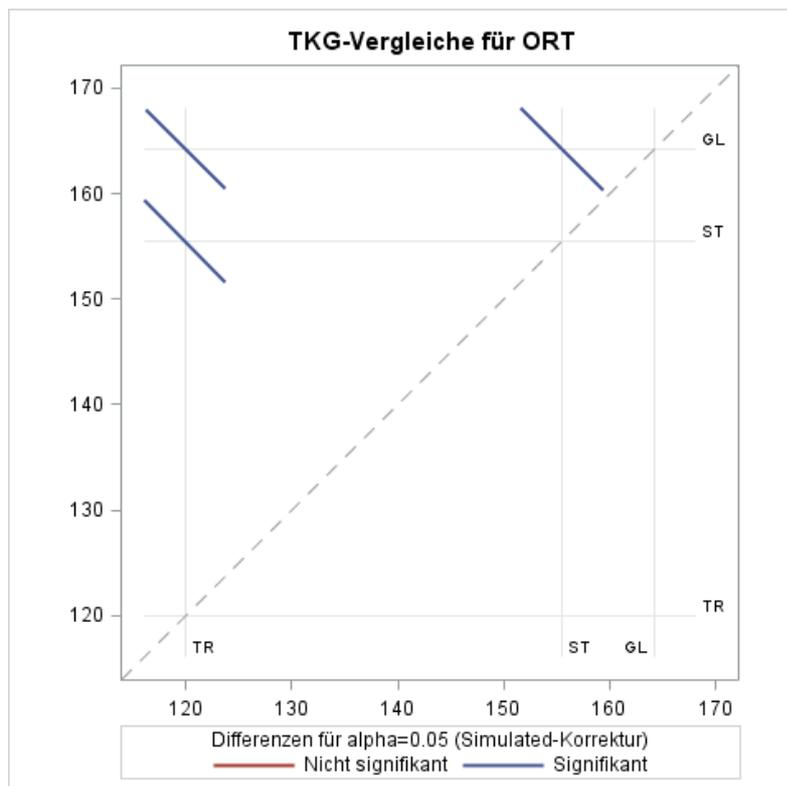


Abbildung 13 Standortvergleiche im TKG von Gelben Lupinen, Ernte 2013

Weißer Lupine

Bei den Weißen Lupinen gab es in 2013 signifikante Sortenunterschiede im TKG. Diese waren zwischen dem Stamm TRI 07120.01 und TRI 07051 am höchsten (Abbildung 15).

Es gab auch hier signifikante Unterschiede zwischen den Standorten, die wiederum in Groß Lüsewitz mit 407 g hoch und in Triesdorf mit 283 g niedrig im Mittel aller Sorten ausfielen.

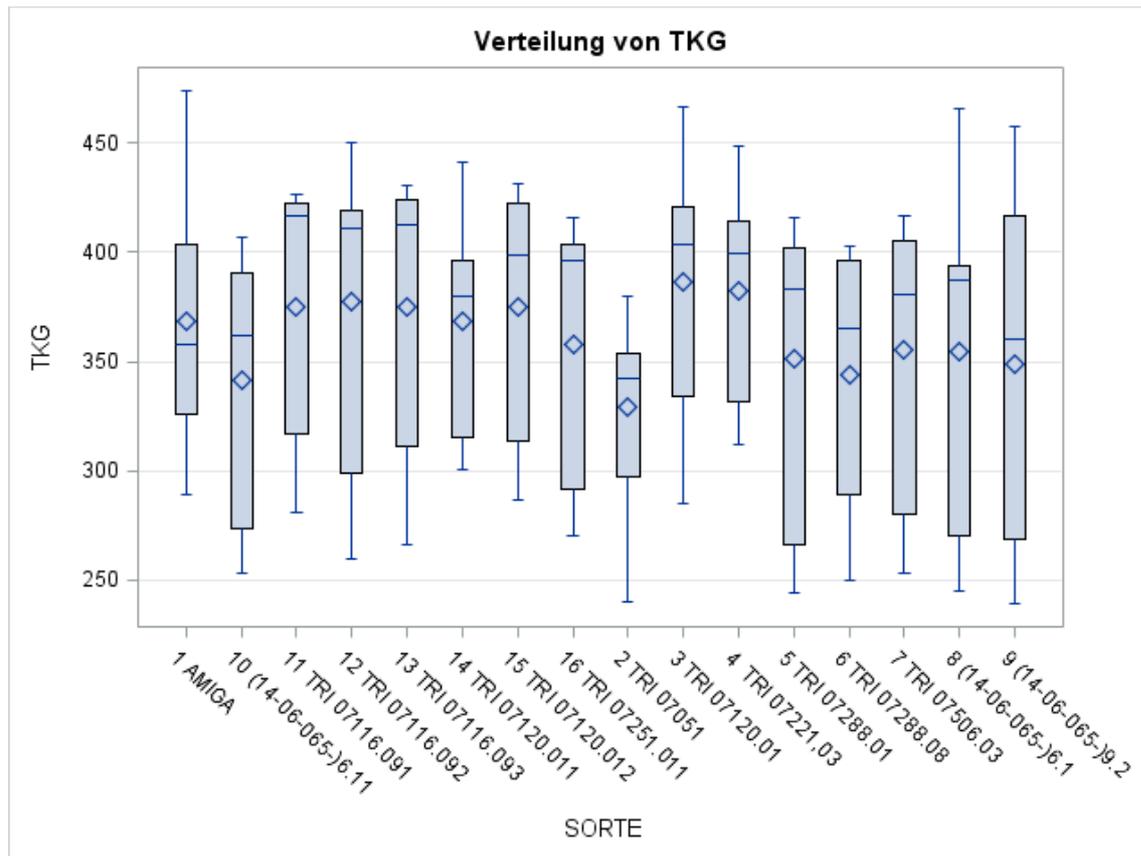


Abbildung 14 TKG von 16 Prüfgliedern Weiße Lupine im Anbaujahr 2013

- **Ermittlung des Protein- und Bitterstoffgehaltes mit Standardmethoden (RS-3)**

A. Proteingehalt

Ernte 2011:

Gelbe Lupine

Für das Jahr 2011 sind auf Grund der sehr geringen Erträge bei den Gelben Lupinen nur sieben Sorten im Proteingehalt vergleichbar. Im Mittel aller Standorte wurden keine signifikanten Schwankungen im Proteingehalt der Prüfglieder festgestellt (43,6 – 44,9 % in TM).

Auf den unterschiedlichen Standorten schwankte der Proteingehalt zwischen 43,6 und 45,2 % in TM und lag in Triesdorf signifikant höher als in Groß Lüsewitz. Die Mittelwerte in Steinach waren mit 44,3 % in der TM weder im Vergleich zu Groß Lüsewitz noch zu Triesdorf signifikant verschieden.

Weißer Lupine

Die Sorte 'Amiga' wies auf allen drei Standorten den höchsten Proteingehalt (im Mittel 38,5 % in TM) und der Stamm TRI 07057 den niedrigsten Proteingehalt (im Mittel 36,6 % in TM) auf. Der mittlere Proteingehalt aller untersuchten Sorten zeigte in folgender Reihenfolge signifikante Standortunterschiede: Steinach > Triesdorf > Groß Lüsewitz.

Ernte 2012:

Gelbe Lupine

Der Proteingehalt aller untersuchten Prüfglieder der Gelben Lupine lag 2012 im Mittel bei 43,3 % in TM mit einer Variationsbreite zwischen 41,1 % in TM (Bosch) und 44,5 % in TM (Stamm 24).

Weißer Lupine

Die Proteingehalte der Weißen Lupine sind erwartungsgemäß etwas niedriger als bei der Gelben Lupine. Die Mittelwerte (39,5 % in TM) schwankten zwischen 37,9 % (TRI 07506.03) und 41,4 % in TM (TRI 07120.011). Die Unterschiede waren signifikant.

Der Rohproteingehalt beider Arten war in 2012 in Groß Lüsewitz signifikant am niedrigsten. Die Gehalte betragen bei den Gelben Lupinen 41,4 % in TM und bei den Weißen Lupinen 37,2 % in TM (Abbildung 15 und Abbildung 16).

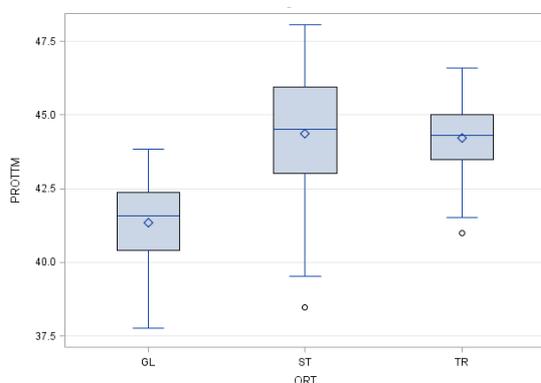


Abbildung 15 Standortverteilung des Rohproteingehalts in Gelben Lupinen, Ernte 2012

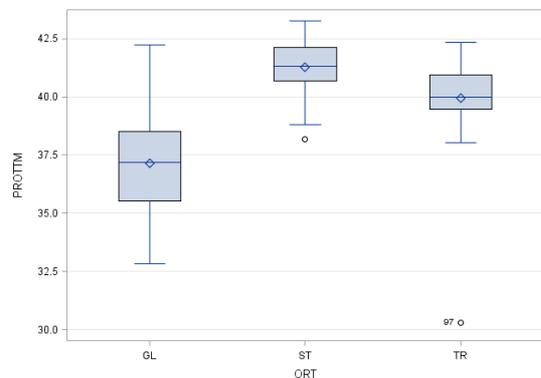


Abbildung 16 Standortverteilung des Rohproteingehalts in Weißen Lupinen, Ernte 2012

Ernte 2013:

Gelbe Lupine

In 2013 gab es signifikante Sortenunterschiede zwischen dem Stamm Bo32424 (42,6 % in TM) und 'Taper' (39,6 % in TM) sowie dem Stamm Bo32424 und 'Perkoz' (39,6 % in TM), aber auch signifikante Ortsunterschiede im Proteingehalt. Die Mittelwerte bei den Gelben Lupinen lagen ähnlich wie in 2012 bei 41,5 % in TM. Die Ergebnisse der geschätzten Mittelwerte sind in den Abbildung 17 und Abbildung 18 dargestellt.

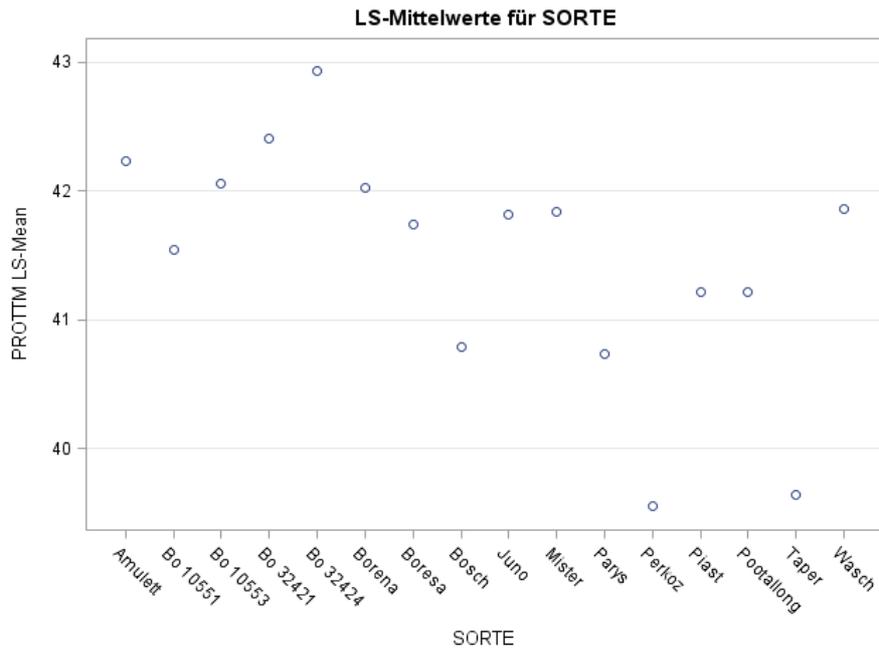


Abbildung 17 Geschätzte Mittelwerte im Proteingehalt von Gelben Lupinen, Ernte 2013, über 3 Standorte und 3 Wiederholungen

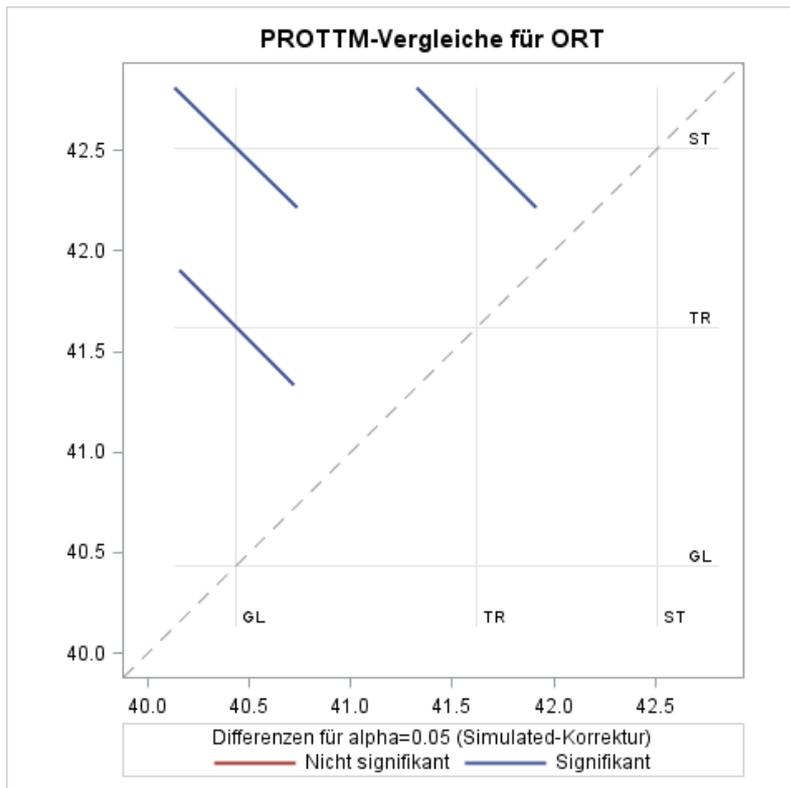


Abbildung 18 Ortsvergleich im Proteingehalt von Gelben Lupinen, Ernte 2013

Weißer Lupine

Bei Weißen Lupinen wurden auch 2013 signifikante Sortenunterschiede im Rohproteingehalt festgestellt, mit den höchsten Proteingehalten bei der Sorte 'Amiga' (41,1 % in TM) und den niedrigsten Proteingehalten bei den Stämmen TRI 07116.093 (39,3 % in TM), TRI 07051

(39,2 % in TM) und TRI 07116.092 (38,8 % in TM). Die Ergebnisse sind in der Abbildung 19 dargestellt.

Ebenfalls zählte Groß Lüsewitz 2013 zu den Standorten mit geringem Proteingehalt. Die Abbildung 20 zeigt den Proteingehalt in Weißen Lupinen auf unterschiedlichen Standorten (unterschiedliche Buchstaben = signifikante Standortunterschiede).

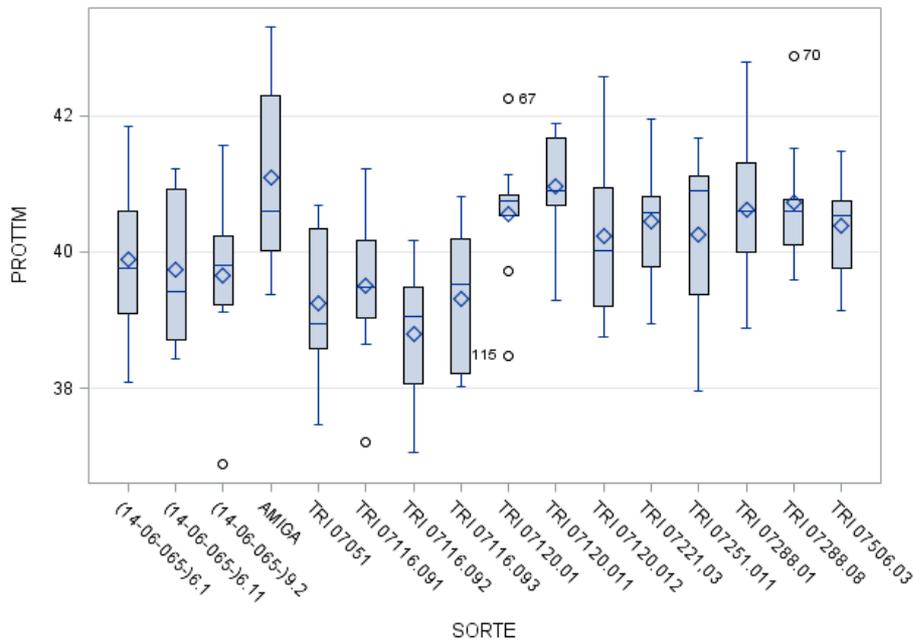


Abbildung 19 Proteingehalt von 16 Prüfgliedern Weiße Lupine im Anbaujahr 2013

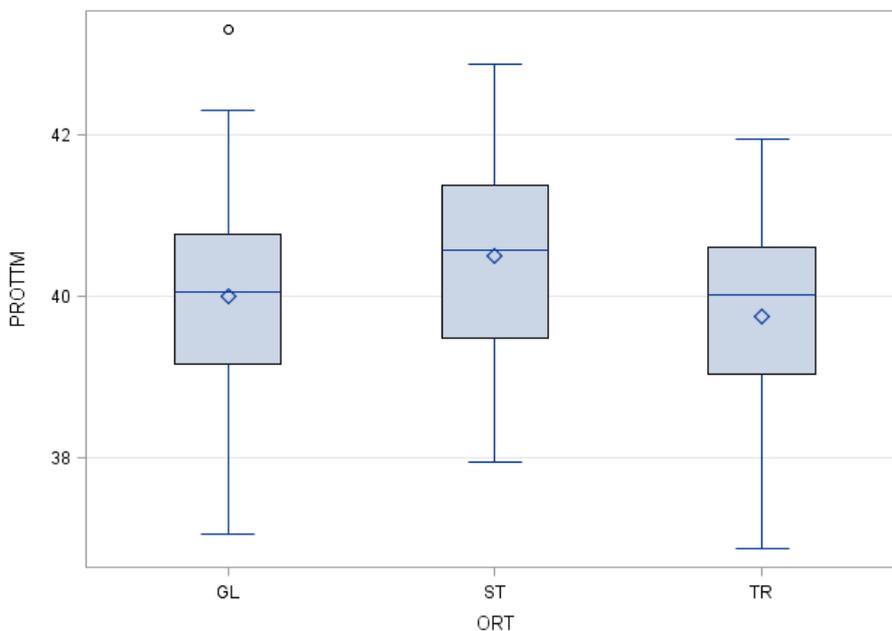


Abbildung 20 Rohproteingehalte in Weißen Lupinen an verschiedenen Standorten (Ernte 2013)

B. Bitterstoffgehalt

Gelbe Lupine

In den Erntejahren 2011–2013 lagen die Alkaloidgehalte aller Prüfglieder der Gelben Lupine im Mittel bei 0,0177 %. Überschreitungen der Richtwerte für die menschliche Ernährung (0,02 %) oder für die tierische Ernährung (0,05 %) gab es damit im Mittel nicht. Leicht erhöhte Werte hatten in 2013 die Sorten 'Boresa', 'Amulett' und 'Mister', die jedoch signifikant höher waren als die Prüfglieder 'Piast' bis 'Bosch'. Alle Zuchtstämme sowie die Sorten 'Bosch' und 'Borena' hatten mit <0,01 % signifikant geringe Alkaloidgehalte als die Prüfglieder 'Boresa' bis 'Perkoz' (Abbildung 21).

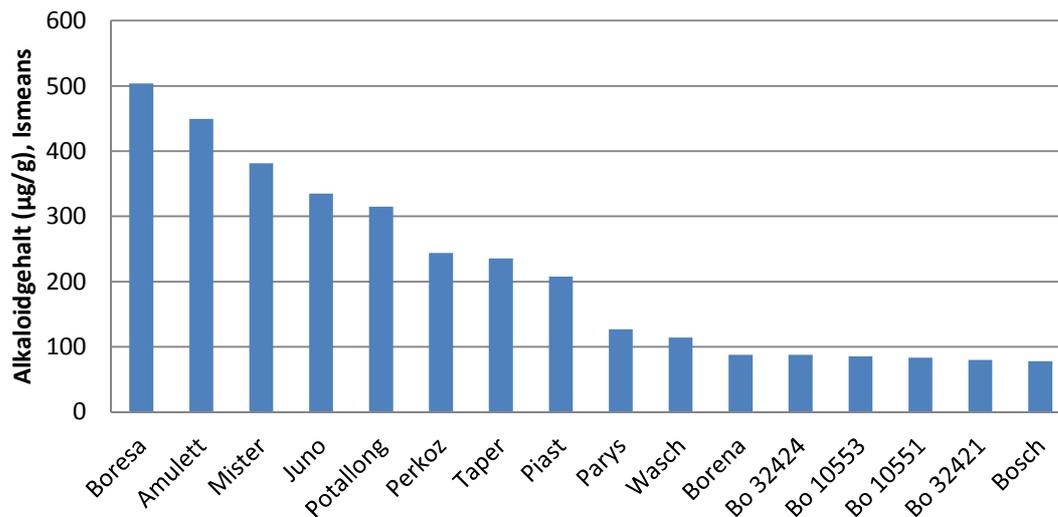


Abbildung 21 Geschätzte Mittelwerte des Alkaloidgehaltes von Gelben Lupinen (16 Prüfglieder, 3 Standorte und 3 Wiederholungen in 2013)

Die signifikant höchsten Alkaloidgehalte zeigte 2013 der Standort Triesdorf (Abbildung 22, Angabe der Alkaloidgehalte in µg/g).

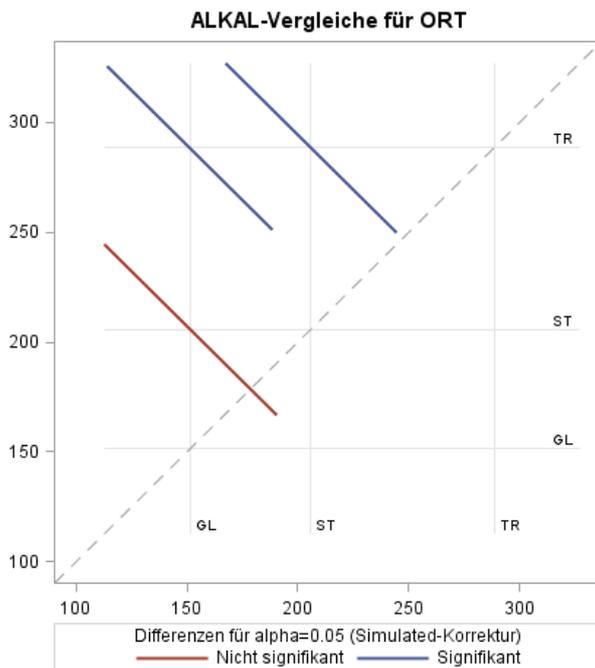


Abbildung 22 Ortsvergleich des Alkaloidgehaltes [µg/g] in Gelben Lupinen 2013

Weißer Lupine

Unter den Prüfgliedern der Weißen Lupine befand sich noch sehr viel alkaloidhaltiges Material, insbesondere in 2011. Hauptsächlich aus diesem Grund wurde in 2012 das Material fast komplett ausgewechselt. Ein bitterer Stamm (TRI 07051) war jedoch in 2012 und 2013 noch vorhanden. Werden nur die „Süßlupinen“ betrachtet, so findet sich in 2012 trotzdem ein sehr hoher mittlerer Alkaloidgehalt (1316,5 µg/g, alle Prüfglieder und Orte). Das Anbaujahr 2013 ist exemplarisch in Abbildung 23 dargestellt. Ähnliche Ergebnisse wurden auch in 2012 erzielt, mit Variationsbreiten 325,8 µg/g ('Amiga') – 3086,9 µg/g (Stamm (14-06-065-)6.1).

Im Standortvergleich wurden am Standort Triesdorf die höchsten Alkaloidgehalte gefunden. Die Ergebnisse waren in 2012 nicht signifikant gegenüber den Standorten Steinach und Groß Lüsewitz. In 2013 lagen die Alkaloidgehalte auf dem Standort Triesdorf signifikant höher (2503,7 µg/g) gegenüber den Standorten Groß Lüsewitz (1811,1 µg/g) und Steinach (1628,1 µg/g). Siehe dazu Abbildung 24 (unterschiedliche Buchstaben = signifikante Sortenunterschiede).

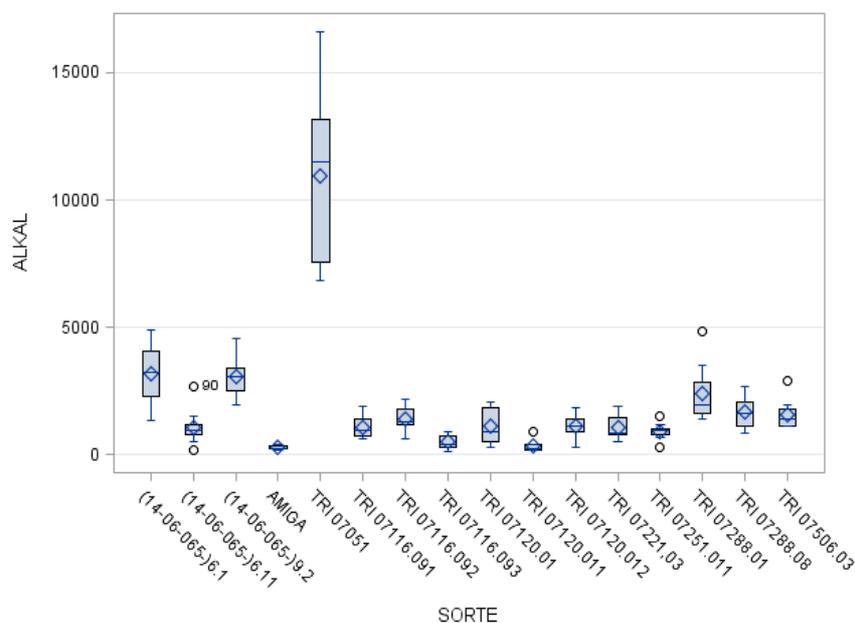


Abbildung 23 Alkaloidgehalt ($\mu\text{g/g}$) in 16 Prüfgliedern der Weißen Lupine im Anbaujahr 2013 auf 3 Standorten

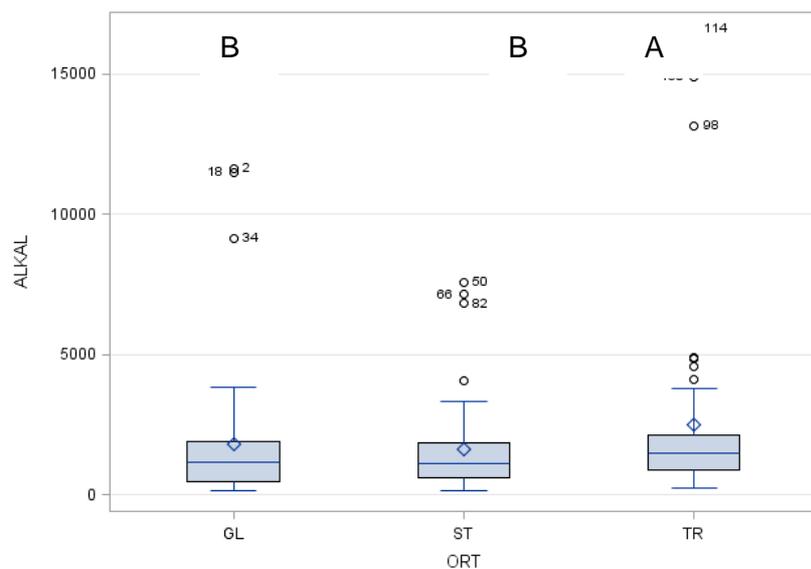


Abbildung 24 Alkaloidgehalt [$\mu\text{g/g}$] auf 3 Standorten der Ernte 2013 (Weiße Lupinen)

Insgesamt sind für alle untersuchten Parameter in der Tabelle 8 die Mittelwerte und Variationsbreiten angegeben.

Tabelle 8 Mittelwerte und Variationsbreite von Ertrag, TKG sowie Alkaloidgehalt in Gelben und Weißen Lupinen

Parameter	Jahr	Lupinenart	Variationsbreite	Mittelwert
Ertrag [dt/ha]	2011	LUG	< 0,5 – 41,89	9,2
Ertrag [dt/ha]	2011	LUW	< 0,5 – 30,40	12,5
Ertrag [dt/ha]	2012	LUG	0,81 – 29,20	11,5
Ertrag [dt/ha]	2012	LUW	< 0,5 – 34,60	12,0
Ertrag [dt/ha]	2013	LUG	1,42 – 23,12	10,4
Ertrag [dt/ha]	2013	LUW	0,53 – 26,70	8,5

Parameter	Jahr	Lupinenart	Variationsbreite	Mittelwert
TKG [g]	2011	LUG	107 – 194	147
TKG [g]	2011	LUW	272 – 566	396
TKG [g]	2012	LUG	106 – 191	141
TKG [g]	2012	LUW	231 – 433	351
TKG [g]	2013	LUG	89 – 213	146
TKG [g]	2013	LUW	239 – 474	362
Proteingehalt (% in TM)	2011	LUG	39,25 – 46,69	44,4
Proteingehalt (% in TM)	2011	LUW	32,18 – 40,39	37,5
Proteingehalt (% in TM)	2012	LUG	37,78 – 48,07	43,3
Proteingehalt (% in TM)	2012	LUW	30,31 – 43,26	39,5
Proteingehalt (% in TM)	2013	LUG	35,12 – 44,82	41,4
Proteingehalt (% in TM)	2013	LUW	36,88 – 43,31	40,1
Alkaloidgehalt (µg/g)	2011	LUG	37 – 642	166
Alkaloidgehalt (µg/g)	2011	LUW	182 – 17673	4376
Alkaloidgehalt (µg/g)	2012	LUG	49 – 417	167
Alkaloidgehalt (µg/g)	2012	LUW	133 – 17516	2053
Alkaloidgehalt (µg/g)	2013	LUG	49 – 743	217
Alkaloidgehalt (µg/g)	2013	LUW	138 – 16611	1982

- **Identifizierung von Zuchtmaterial mit hohem Gehalt an Protein und niedrigem Gehalt an Bitterstoffen**

Bei der Identifizierung von Zuchtmaterial mit hohem Proteingehalt und geringem Alkaloidgehalt ist zwingend der Ertrag zu berücksichtigen, da eine Bezahlung aktuell nur nach dem Ertrag erfolgt. Auch bei Lupinen zeigt sich häufig eine negative Korrelation zwischen dem Ertrag und dem Proteingehalt.

Gelbe Lupine

Bei dem Zuchtstamm Bo32424 wurde eine solche negative Korrelation zwischen Ertrag und Proteingehalt nicht gefunden. Die hohen Proteingehalte in 2012 (44,5 % in TM) und 2013 (42,6 % in TM) gingen einher mit vergleichsweise hohen Erträgen (13,1 dt/ha bzw. 13,3 dt/ha). Da der Alkaloidgehalt von Bo32424 ebenfalls sehr niedrig war, erscheint dieser Stamm als gut geeignet für eine weitere Sortenentwicklung.

Weißer Lupine

Die alte Sorte 'Amiga' hatte zwar in 2013 die höchsten Proteingehalte (41,1 % in TM), fiel jedoch jährlich durch extrem geringe Erträge auf (2,6 dt/ha in 2013). Die ertragsstärksten Stämme, zu denen in 2013 die Stämme TRI 07116.091, TRI 07116.092 und TRI 07116.093 gehörten, hatten mit 39,2 % in TM im Mittel akzeptable Proteingehalte. Der Alkaloidgehalt lag jedoch für den Stamm TRI 07116.091 mit 1056,5 µg/g zu hoch. Der Stamm TRI 07116.093 wies mit 488,6 µg/g weniger Alkaloide auf.

- **Ermittlung des Protein- und Bitterstoffgehaltes mit Schnellmethoden (RS-4 bis RS-7)**

Für die Entwicklung von züchtungsrelevanten Methoden der Eiweiß- und Bitterstoffgehaltbestimmung in ganzen Körnern und Schrot von Gelben und Weißen Lupinen wurden NIR-

Spektren aufgenommen. In den Abbildung 25 und Abbildung 26 sind typische Spektralaufnahmen, aufgenommen mit einem MPA (Multi Purpose Analyser) der Fa. BRUKER, für Gelbe und Weiße Lupinen an ganzen Körnern dargestellt.

Die ermittelten Kalibrations- und Validationsdaten für Gelbe und Weiße Lupinen erlaubten im Anbaujahr 2011 eine zufriedenstellende Vorhersage des Proteingehaltes, aber eine schlechte Vorhersage des Alkaloidgehaltes am ganzen Korn.

Eine externe Validierung der Proben aus weiteren Anbaujahren führte nur für die Vorhersage des Proteingehaltes zu ausreichend genauen Ergebnissen. Die Güte der Kalibrierung und Validierung, die sich im Wert für den Korrelationskoeffizienten r und im Fehler der Kalibration RMSEE, Fehler der internen Validation RMSECV und Fehler der externen Validation RMSEE widerspiegeln, sind für Gelbe Lupinen in

Tabelle 9 und für Weiße Lupinen in der

Tabelle 10 dargestellt.

Eine Vorhersage des Alkaloidgehaltes scheiterte bei der Benutzung der NIR-Technik an dem zu hohen Fehler der Vorhersage im Futter- und Lebensmittelbereich.

Gelbe Lupine

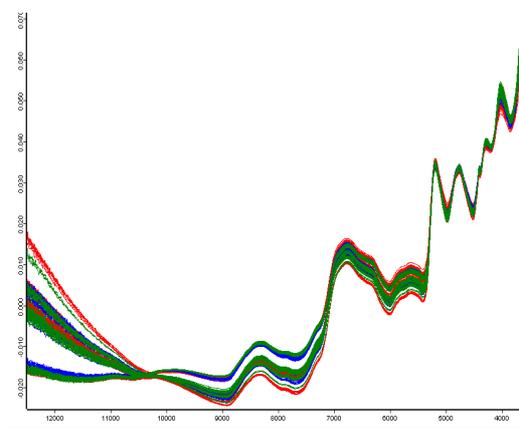


Abbildung 25 Aufnahme von NIR-Spektren an ganzen Körnern von Gelben Lupinen in 2011 (rot: Groß Lüsewitz, blau: Steinach, grün: Triesdorf)

Tabelle 9 Ergebnisse der Kalibration und Kreuzvalidation der Vorhersage des Proteingehaltes (externe Validation) in Gelben Lupinensamen der Ernte 2012 und 2013

Parameter	Kalibration	interne Validation	externe Validation
r	0,8445	0,7998	0,7912
RMSEE	0,939		
RMSECV		1,04	
RMSEP			1,29

Weißer Lupine

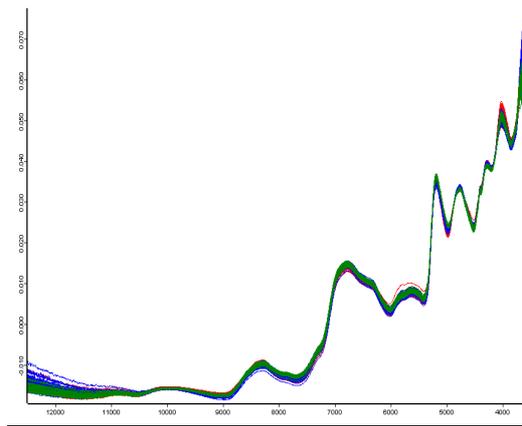


Abbildung 26 Aufnahme von NIR-Spektren an ganzen Körnern von weißen Lupinen 2011 (rot: Groß Lüsewitz, blau: Steinach, grün: Triesdorf)

Tabelle 10 Ergebnisse der Kalibration und Kreuzvalidierung der Vorhersage des Proteingehaltes (externe Validation) in weißen Lupinensamen der Ernte 2012 und 2013

Parameter	Kalibration	interne Validation	externe Validation
r	0,7506	0,699	0,6401
RMSEE	1,1		
RMSECV		1,18	
RMSEP			1,3

5. Diskussion der Ergebnisse

(ZL-1 bis ZL-8)

Die Übertragbarkeit des Gewächshausresistenztests der Blauen Lupine auf die Gelbe und Weiße Lupine ist erfolgt und kann für Anschlussprojekte effizient eingesetzt werden. Das Screening verschiedener Sorten und Zuchtlinien der Gelben Lupine im Gewächshaus hat eine gute Differenzierung zwischen potentiellen Resistenzträgern und anfälligen Linien und Sorten ergeben. Die Weiße Lupine hingegen zeigt kaum Differenzierung. Die Methode ist für eine erste Einschätzung des Resistenzpotentials gut geeignet und kann für eine Vorselektion eingesetzt werden. Als guter Infektionszeitpunkt im Gewächshaus haben sich die Monate Februar/März herauskristallisiert, so dass man das Ergebnis des Gewächshaus-tests als Entscheidungshilfe für die Freilandaussaat im selben Versuchsjahr nutzen kann.

Die Etablierung des Freilandtests ist ebenfalls erfolgt und ein umfassendes Sortiment an Sorten und Linien wurde im Feld beurteilt. Die künstliche Infektion mittels eines Infektionsstreifens mit der hoch anfälligen Sorte 'Amiga' (WL) hat sich als sehr wirkungsvoll erwiesen. Bei der Gelben Lupine zeigten die im Gewächshausresistenztest als positiv eingestuft Sorten 'Taper', 'Mister', 'Legat' auch im Feld ein gutes bis mittleres Resistenzniveau, somit wird die Eignung des Resistenztests im Gewächshaus für ein Vorscreening bestätigt. Eine Differenzierung im Hinblick auf das Anthraknoseresistenzpotentials konnte bei der Weißen Lupine nicht beobachtet werden.

Eine Differenzierung im Blühbeginn und in der Hülsenbildung ist nur bei der Gelben Lupine möglich. Die Weiße Lupine zeigt auch im Hinblick auf die Frühzeitigkeit keinerlei Differenzierung.

Die Etablierung von molekularen Markern ist für bei Lupinen-Arten gelungen und diese können in Folgeprojekten für die Identifizierung von Selektionsmarkern eingesetzt werden. Für die Erstellung von Kartierungspopulationen wurden fünf verschiedene Ausgangskreuzungen zwischen potentiellen Resistenzträgern und anfälligen Sorten durchgeführt. Die genetische Analyse der Anthraknoseresistenz in der Gelben Lupine weist auf einen monogen dominanten Erbgang der Resistenz hin. Die resistente Sorte 'Taper' ist ebenfalls frühzeitig und kann in dieser Kombination für die Züchtung genutzt werden.

(RS-1 bis RS-7)

Die Auswertung der Erträge, des TKG, der Protein- und Alkaloidgehalte erfolgte in jedem Anbaujahr separat, weil bei den Gelben Lupinen z. B. alte Sorten mit sehr wenig Ertrag, wie die 'Gülzower Süße Gelbe' und die Bitterlupine 'Schwako' durch ertragreichere und süße Sorten bzw. Zuchtstämme ausgetauscht wurden (Tabelle 2). Außerdem konnten bei den Gelben Lupinen nicht immer alle Prüfglieder geerntet werden (nicht nur Anthraknosebefall, sondern auch schlechtes Auflaufen der Gelben Lupine auf dem Standort Steinach). Durch das Vorhandensein von vielen bitterstoffhaltigen Prüfgliedern der Weißen Lupine erfolgte im 2. Anbaujahr eine komplette Umstellung des Sortimentes (Tabelle 3).

In den Anbaujahren 2011 und 2013 trat am Standort Groß Lüsewitz ein starker Anthraknosebefall bei der Gelben und Weißen Lupine und im Anbaujahr 2012 ein eher niedriger Befall auf. Im Anbaujahr 2011 musste in Groß Lüsewitz auf Grund des starken Krankheitsbefalls, der späten Abreife und der starken Verunkrautung eine Handernte durchgeführt werden, um Untersuchungsmaterial zu gewinnen. In allen drei Anbaujahren trat auf den Standorten Triesdorf und Steinach ein relativ starker Anthraknosebefall, teilweise erst zu einem späteren Reifestadium, auf, der aber in jedem Fall zu einer starken Ertragsbeeinträchtigung führte.

Die Erträge waren für die Gelbe Lupine mit durchschnittlich 9,8 dt/ha und für die Weiße Lupine mit durchschnittlich 11 dt/ha (alle Prüfglieder, alle Standorte und Jahre) gering.

Im Proteingehalt trat zwischen den Prüfgliedern einer Lupinenart keine große Variabilität auf. Erwartungsgemäß lag jedoch der Proteingehalt der Gelben Lupine mit 43,1 % in TM über dem Proteingehalt der Weißen Lupine mit 39,0 % in TM (alle Jahre, alle Standorte). Über Proteingehalte, die im Jahr 2011 in Groß Lüsewitz erzielt wurden, wurde bereits in 2012 berichtet (Jansen und Balko, 2012).

Im Gesamtalkaloidgehalt der Gelben und Weißen Lupinen zeigten sich große Unterschiede. Während der Gesamtalkaloidgehalt im Samen der Gelben Lupine im Mittel 0,0177 % betrug, lag der Alkaloidgehalt bei der Weißen Lupine mit 0,2796 % deutlich höher, weil bei den Weißen Lupinen noch viel bitteres Material vorhanden war.

Als Voraussetzung für die Entwicklung von Schnellmethoden wurden mit NIR-Geräten Spektren aufgenommen und NIR-Kalibrationen erstellt. Eine zerstörungsfreie NIR-Schnellbestimmungsmethode mit einem Bruker Multi Purpose Analyzer zur Ermittlung des Rohproteingehaltes in Gelben und Weißen Lupinen in ganzen Körnern ist möglich (Jansen et al. 2014). Eine Analyse des Alkaloidgehaltes mittels NIR-Methoden scheiterte bisher an der hohen Streuung der Alkaloide in niedrigen Alkaloidbereichen, insbesondere bei Weißen Lupinen.

6. Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die erzielten Ergebnisse zum Ertragsniveau, Resistenzniveau, Frühzeitigkeit und Inhaltsstoffen der Gelben und Weißen Lupine stellen für den Wissenschaftspartner eine ergiebige Quelle für hochwertige Publikationen dar. Darüber hinaus erlauben die Ergebnisse eine Einengung von Fragestellungen und genetischen Materialien für die weitere Züchtungsforschung zu Lupinen. Im züchtungsmethodischen Bereich erlauben die Ergebnisse eine Fokussierung auf bestimmte Modellgenome für die Entwicklung molekularer Selektionsmarker für Anthraknoseresistenz in Gelber Lupine.

Für die Sortenzüchtung steht die Nutzung der Ergebnisse für die Lupinenzüchtung im Vordergrund. Die im Vorhaben erzielten Forschungsergebnisse, Daten und verwendeten Lupinenlinien sind die Basis für die Entwicklung verbesserter Sorten bei der Gelben und Weißen Lupine.

In der Gelben Lupine konnte eine frühzeitige und nahezu anthraknoseresistente Lupinensorte identifiziert werden, die nun als Kreuzungselter für eine Züchtung stabiler LUG-Sorten zur Verfügung steht. Die Resistenzzüchtung bei Gelber Lupine wird durch die Aufklärung des Vererbungsmodus der Resistenz in der Sorte 'Taper' unterstützt.

Eine zerstörungsfreie NIR-Schnellbestimmungsmethode mit einem Bruker Multi Purpose Analyser zur Ermittlung des Rohproteingehaltes in Gelber und Weißer Lupine in ganzen Körnern ist möglich. Hierdurch sollte die Züchtung von Lupinen im Hinblick auf das Zuchtziel 'Rohproteingehalt' neue züchtungsmethodische Impulse erhalten.

Mit dem Nachweis der wichtigen Eigenschaften "Frühzeitigkeit" und "Anthraknoseresistenz" bei Gelber Lupine und der Entwicklung einer zerstörungsfreien Rohprotein-Schnellbestimmungsmethode leistet das vorliegende Züchtungsforschungsvorhaben Beiträge zu dem Ziel des BMEL, den Anbau und die Nutzung von Körnerleguminosen in Deutschland zu fördern.

7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen, weiterführende Fragestellungen

Die beiden Ziele des Projekts

A Die Verbesserung der Widerstandsfähigkeit von Gelber und Weißer Lupine gegen Anthraknose und

B Die Erhöhung wertgebender Inhaltsstoffe (Protein) und Verminderung werthemmender Inhaltsstoffe (Alkaloide) sowie die Erfassung von Ertragskomponenten bei Gelber und Weißer Lupine

konnten im Wesentlichen erreicht werden.

Es ist im Projekt, gelungen durch Gewächshaus und Freilandresistenztests in der Gelben Lupine eine Sorte mit hohem Resistenzpotential und gleichzeitiger Frühzeitigkeit zu identifizieren, die nun der Sortenzüchtung zur Verfügung steht. Die Vererbung der Resistenz wurde in einer spaltenden Kartierungspopulation analysiert. Es wurden molekulare Marker etabliert, die für spätere Kartierung sowie für die Entwicklung von Selektionsmarkern für das Merkmal Resistenz genutzt werden können.

Das Screening von Zuchtstämmen der Weißen Lupine zeigte keinerlei Differenzierung im Hinblick auf das Merkmal Resistenz und Frühzeitigkeit. Alle Linien waren hoch anfällig und blühten fast gleichzeitig. Es wäre sinnvoll, Genbankmaterial für weitere Arbeiten zur Selektion von Resistenzen einzusetzen.

Bei der Identifizierung von Zuchtmaterial mit hohem Proteingehalt und geringem Alkaloidgehalt ist zwingend der Ertrag zu berücksichtigen, da eine Bezahlung aktuell nur nach dem Ertrag erfolgt. Auch bei Lupinen zeigt sich häufig eine negative Korrelation zwischen dem Ertrag und dem Proteingehalt. Bei dem Zuchtstamm Bo32424 (GL) wurde eine negative Korrelation zwischen Ertrag und Proteingehalt nicht gefunden. Da der Alkaloidgehalt von Bo32424 ebenfalls sehr niedrig war, erscheint dieser Stamm als gut geeignet für eine weitere Sortenentwicklung. Es ist zu berücksichtigen, dass der Zuchtstamm allerdings über keinerlei Anthraknoseresistenz verfügt. Die Sorte 'Taper' hingegen ist resistent, verfügt über einen recht guten Ertrag aber leider niedrige Proteingehalte. Es ist vorstellbar, die positiven Eigenschaften der beiden Sorten in einem Kreuzungsprogramm zu kombinieren.

Die alte Sorte 'Amiga' (WL) hatte zwar in 2013 die höchsten Proteingehalte, fiel jedoch jährlich durch extrem geringe Erträge. Hinzu kommt die extreme Anfälligkeit gegenüber Anthraknose. Der Stamm TRI 07116.093 zeigte ein gutes Ertragsniveau und wies mit 488,6 µg/g weniger Alkaloide auf.

8. Zusammenfassung

Bei Gelber Lupine wurde im Rahmen des Vorhabens eine Sorte mit sehr guter Anthraknose-resistenz und Frühzeitigkeit identifiziert, die dank ihres endständigen Wuchstyps Ertrags-potenzial aufweist. Diese Ergebnisse sind im Hinblick auf eine anzustrebende Belebung der Sortenzüchtung bei Gelber Lupine und ihre Verwendung auf den leichten Standorten Nordostdeutschland sowie im ökologischen Landbau von potenziellem Interesse.

Bei Weißer Lupine konnte in den untersuchten Sorten und Zuchtstämmen hingegen kein Potenzial für Anthraknoseresistenz festgestellt werden.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass unter Zuhilfenahme der Sequenzinformation aus sequenzierten Leguminosen-Genomen molekulare Marker in Gelber Lupine für markergestützte Züchtungsansätze gewonnen werden können. Diese Arbeiten sind weiterzuführen, um eine ausreichende Zahl an genetisch kartierten Markern für die Züchtungsforschung und Züchtung bei Gelber Lupine zur Verfügung zu stellen.

Ein Sortiment von verschiedenen Prüfgliedern Gelber und Weißer Lupine wurde dreijährig auf drei ökologisch bewirtschafteten Standorten (Groß Lüsewitz, Triesdorf, Steinach) bezüglich Ertragskomponenten, Eiweißgehalt und Alkaloidgehalt untersucht. Die Kornerträge waren für die Gelbe Lupine mit durchschnittlich 10 dt/ha und für die Weiße Lupine mit durchschnittlich 11 dt/ha (alle Standorte und Jahre) gering. Im Tausendkorngewicht gab es signifikante Standortunterschiede. Die Sortenunterschiede waren nicht immer signifikant. Erwartungsgemäß lag der Proteingehalt der Gelben Lupinen mit 43,1 % in TM über jenem der Weißen Lupinen mit 39,0 % in TM (alle Jahre, alle Standorte). Im Projektverlauf wurde eine GC-/MS-Methode zur Bestimmung der Alkaloide in Gelben und Weißen Lupinen etabliert, mit welcher signifikante Sortenunterschiede im Bitterstoffgehalt nachgewiesen werden konnten. Im Gesamtalkaloidgehalt von Gelben und Weißen Lupinen zeigten sich große Unterschiede. Während der Gesamtalkaloidgehalt im Samen der Gelben Lupine im Mittel 0,0177 % betrug, lag der Alkaloidgehalt bei der Weißen Lupine mit 0,2796 % deutlich höher.

Als Voraussetzung für die Entwicklung von Schnellmethoden wurden mit NIR-Geräten Spektren aufgenommen und NIR-Kalibrationen erstellt. Eine zerstörungsfreie NIR-Schnellbestimmungsmethode mit einem Bruker Multi Purpose Analyzer zur Ermittlung des Rohproteingehaltes in Gelber und Weißer Lupine in ganzen Körnern ist möglich. Für die Analyse des Alkaloidgehaltes mittels NIR-Methoden war bisher der Fehler der Kalibrierung und Validierung für eine Analyse im Futter- und Lebensmittelbereich, insbesondere bei Weißen Lupinen, zu hoch.

9. Literaturverzeichnis

- Adhikari K, Thomas G, Buirchell B, Sweetingham M (2008) Identification of Anthracnose Resistance in Yellow Lupins and its Incorporation into Breeding Lines. In: Palta J.A., Berger J.D. (eds.) *Lupins for Health and Wealth*. In J.A. Palta and J.B. Berger (eds): *Lupins for Health and Wealth*. Proc 12th Int Lupin Conf, 14.–18.09.2008, Fremantle, Western Australia, 251–254.
- Aulrich K, Böhm H (2007a) Evaluation of feed quality of organically grown feedstuffs by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Proc Soc Nutr Physiol* 16:87.
- Aulrich K, Böhm H (2007b) Raps im ökologischen Landbau – Qualitätsbewertung mit Hilfe der Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) In: Zikeli S, Claupein W (eds) *Zwischen Tradition und Globalisierung: Beiträge zur 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau: Band 1*; Universität Hohenheim, 20.–23. März 2007. Berlin: Köster, 473–476.
- Ciesiolka D, Muzquiz M, Burbano C, Altares P, Pedrosa MM, Wysocki W, Folkman W, Popena M, Gulewicz K (2005): An effect of various nitrogen forms used as fertilizer on *Lupinus albus* L. yield and protein, alkaloid and alpha-galactosides content. *J Agron & Crop Sci* 191:458–463.
- Eickmeyer F (2009): Alte und neue Herausforderungen in der Züchtung von Leguminosen. *J Kulturpflanzen* 61 (9): 352–358.
- Gonzalez-Martin I, Alvarez-Garcia N, Hernandez-Andaluz JL (2006): Instantaneous determination of crude proteins, fat and fibre in animal feeds using near infrared reflectance spectroscopy technology and a remote reflectance fibre-optic probe. *Anim Feed Sci Technol* 128:165–171.
- Jansen G, Jürgens H-U, Flamme W: Züchterische Bearbeitung von Süßlupinen für den ökologischen Landbau – Qualitätsuntersuchungen im Hinblick auf Futtereignung, FKZ: 03OE355, 15.04.2004 – 28.02.2006 <http://orgprints.org/11087/>
- Jansen G, Jürgens, H-U, Ordon F (2009): Effects of temperature on the alkaloid content of seeds of *Lupinus angustifolius* Cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science* 195:172–177.
- Jansen G, Kuhlmann J (2007): Proteinuntersuchungen in Einzelsamen von Lupinen zur züchterischen Erhöhung des Eiweißgehaltes. Beiträge zur 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Stuttgart-Hohenheim, 20.-23.03.2007, 263–266.
- Kjeldahl J, (1883): Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Z Anal Chem* 22, 366–382.
- Nelson M, Phan HT, Ellwood S, Moolhuijzen P, Hane J, Williams A, O'Lone C, Fosu-Nyarko J, Scobie M, Cakir M, Jones MK, Bellgard M, Książkiewicz M, Wolko B, Barker S, Oliver R, Cowling W (2006) The first gene-based map of *Lupinus angustifolius* L. – Location of domestication genes and conserved synteny with *Medicago truncatula*. *Theor Appl Genet* 113 (2):225–238.
- Nelson MN, Moolhuijzen PM, Boersma JG, Chudy M, Lesniewska K, Bellgard M, Oliver RP, Świącicki W, Wolko B, Cowling WA, Ellwood SR (2010) Aligning a New Reference Genetic Map of *Lupinus angustifolius* with the Genome Sequence of the Model Legume, *Lotus japonicus*. *DNA Res* 17 (2):73–83.
- Parra-Gonzalez L, Aravena-Abarzua G, Navarro-Navarro C, Udall J, Maughan J, Peterson L, Salvo-Garrido H, Maureira-Butler I (2012) Yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) transcriptome sequencing: molecular marker development and comparative studies. *BMC Genomics* 13 (1):425.

- Perez-Marin DC, Garrido-Varo A, Guerrero-Ginel JE (2004): Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the mandatory labelling of compound feedingstuffs: chemical composition and open-declaration. *Anim Feed Sci Technol* 116:333–349.
- Pisarikova B, Zraly Z, Bunka F, Trckova M (2008) Nutritional value of white lupine cultivar Butan in diets for fattening pigs. *Vet Med* 53:124–134.
- Phan HTT, Ellwood SR, Adhikari K, Nelson MN, Oliver RP (2007) The First Genetic and Comparative Map of White Lupin (*Lupinus albus* L.): Identification of QTLs for Anthracnose Resistance and Flowering Time, and a Locus for Alkaloid Content. *DNA Res* 14 (2):59–70. doi:10.1093/dnares/dsm009
- Wink M, Witte L, Hartmann T, Theuring C, Volz V, (1983): Accumulation of Quinolizidine Alkaloids in Plants and Cell Suspension Cultures: Genera *Lupinus*, *Cytisus*, *Baptisia*, *Genista*, *Laburnum*, and *Sophora*. *Planta Medica* 48:253–257.
- Yang H, Boersma J, You M, Buirchell B, Sweetingham M (2004) Development and implementation of a sequence-specific PCR marker linked to a gene conferring resistance to anthracnose disease in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Mol Breed* 14 (2):145–151.
- Yang H, Boersma JG, You M, Buirchell, BJ, Sweetingham MW (2004) Development and implementation of a sequence-specific PCR marker linked to a gene conferring resistance to anthracnose disease in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) *Mol Breed* 14:145–151.
- Yang H, Renshaw D, Thomas G, Buirchell B, Sweetingham M (2008) A strategy to develop molecular markers applicable to a wide range of crosses for marker assisted selection in plant breeding: a case study on anthracnose disease resistance in lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Mol Breed* 21 (4):473–483.

10. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen

Ruge-Wehling B, Fischer K, Klamroth A, Saal B, Geißendörfer H, Wehling P: Anthraknose-Resistenz in der Lupine – Ein Neustart für die Sortenzüchtung? GFP-Tagung, 09.11.2011, Bonn, Vortrag

Ruge-Wehling B, Thiele C, Dieterich R, Fischer, K, Wehling P: Anthracnose Resistance in Lupins, 13th ILC (International Lupin Conference), 6 – 11 June 2011, Poznan, Poland, Vortrag

Ruge-Wehling B: Lupinen – wertvolle Eiweißpflanzen für Mensch und Tier. Eiweißstrategie – Potentiale einheimischer Rohstoffe als Proteinquellen für Mensch und Tier, 12.06.2012, Osnabrück, Vortrag

Ruge-Wehling B, Fischer K, Dieterich R, Rotter B, Winter P, Wehling P: Anthracnose Resistance in Lupins – Increasing Yield Stability and Promoting Growth of Homegrown Legumes, First Legume Society Conference, 09. – 11.05.2013, Novi-Sad, Serbia, Poster

Ruge-Wehling B, Fischer K, Dieterich R, Rotter B, Winter P, Wehling P: Anthracnose Resistance in Lupins – Increasing Yield Stability and Promoting Growth of Homegrown Legumes, VI ICLGG (International Conference on legume Genetics and Genomics), 02.10 – 07.10.2012, Hyderabad, India, Poster

Ruge-Wehling B: Züchtungsforschung am Julius Kühn-Institut, Stakeholder Meeting Bioökonomie MV, Greifswald, 05.07.2013, Vortrag

Ruge-Wehling B: Ansätze zur Erhöhung der Anbaubedeutung der Gelben und Weißen Lupine im Ökolandbau. Vortragsveranstaltung GFL, 17.01.2012, Groß Lüsewitz, Vortrag

Jansen G, Jürgens H-U: Züchtungsmethodische Ansätze zur Erhöhung der Anbaubedeutung der Gelben und Weißen Lupine im Ökolandbau. Vortragsveranstaltung G.F.L., 17.01.2012, Groß Lüsewitz, Vortrag, Kurzfassung: <http://www.lupinenverein.de/PDFDokumente/2012/Jansen-2012.pdf>

Jansen G, Jürgens H-U, Seddig S, Balko C, Dieterich R: Langjährige Forschung zu verschiedenen Körnerleguminosen unter ökologischen Anbaubedingungen am Standort Groß Lüsewitz. Vortrag am 05.06.2012 zum Tag des ökologischen Landbaus 2012 in Gülzow, http://www.jki.bund.de/no_cache/de/startseite/institute/resistenzforschung-stresstoleranz/arbeitsgruppen/stressbedingte-veraenderungen-von-qualitaetsparametern.html

Jansen G, Jürgens H-U: Züchtungsmethodische Ansätze zur Erhöhung der Anbaubedeutung der Gelben (*Lupinus luteus*) und Weißen Lupine (*Lupinus albus*) im Ökolandbau. GPZ-Tagung „Brennpunkt Leguminosen: Ertrag und Qualität“, 12.09. – 13.09.2012, Willstatt-Eckartsweier, Poster

Wehling, P.; Ruge-Wehling, B.; Rudloff, E.; Jansen, G.; Balko, C. (2012): Auf dem Weg zu einer nachhaltigen Tierernährung. Züchtungsforschung kann heimische Leguminosen für die Tierernährung attraktiver machen, ForschungsReport Ernährung, Landwirtschaft, Verbraucherschutz Heft: 1, Seite(n):11-15

Jansen G, Balko C (2012) Leguminosen unter Stress – Stabilität von Ertrag und Qualität. Das Blatt 4/2012, Dezember, 1. Jahrgang, 48–51

Jansen G, Jugert M, Ordon F (2014) High-throughput screening for protein content in blue, yellow and white lupins. 64. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2013, 19–20, http://www.raumberg-gumpenstein.at/c/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=668&Itemid=100103&lang=de

Jansen G, Jürgens H-U, Beyer H, Seddig S (2014) Alkaloidgehalt in Blauen, Gelben und Weißen Lupinen. 49. Vortragstagung der DGQ, 17. – 18. März 2014, Kiel, Vortrag